

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Obor: Botanika



Cardamine dentata, její rozšíření ve střední Evropě a
vztah k *Cardamine pratensis*

Cardamine dentata, its distribution in central Europe
and the relationship to *Cardamine pratensis*

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vypracoval: Filip Holič

Školitel: prof. RNDr. Karol Marhold CSc.

Konzultant: Mgr. Gabriela Šrámková

Praha 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury. Dále prohlašuji, že jsem práci, ani její podstatnou část, nepředložil k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Krásné Lípě dne

2018

Podpis:

Poděkování

Jako první bych chtěl poděkovat svému školiteli Karolovi Marholdovi za jeho trpělivost a volný čas, které mi věnoval v podobě odborných konzultací. Dále bych chtěl poděkovat Gábině Šrámkové za rady a pomoc při zpracovávání mikrosatelitových dat. Chci taky poděkovat Báře Šingliarové a Táně Kačmarové za ohromnou pomoc při práci na mikrosatelitech, Lence Martonfiové za velkou pomoc při společném počítání chromozomů, Tomášovi Férovi za pomoc a rady při vytváření NJ tree, lidem z cytolaborky za pomoc s cytometrem a nakonec moc děkuju své rodině, hlavně Kátě a Tobíkovi, že to se mnou vydrželi.

Abstrakt

Tato práce shrnuje doložené údaje o rozšíření *Cardamine dentata* Schult. z čeledi *Brassicaceae* v České republice, dále se zabývá chromozomovými počty a určením ploidních úrovní u tohoto druhu. Využity byly i mikrosatelitové markery, které měly přiblížit potenciální vztah *C. dentata* k druhům ze skupiny *C. pratensis* agg.

Pomocí revize herbářových položek bylo zjištěno, že optimální podmínky pro rozšíření *C. dentata* v ČR jsou v termofytiku a mezofytiku v nadmořských výškách 150–650 m n. m.

Jelikož z ČR nebyly známy žádné karyologické údaje pro tento druh, bylo pomocí průtokové cytometrie a počítání chromozomů nově zjištěno, že se v České republice vyskytují populace s dekaploidní a undekaploidní úrovní ploidie.

Dále pak pomocí mikrosatelitových markerů bylo potvrzeno, že rostliny *C. dentata* jsou geneticky odlišné od ostatních druhů skupiny *C. pratensis* agg.

Klíčová slova: *Cardamine*, *Brassicaceae*, mikrosatelitové markery, počty chromozomů, geografické rozšíření, Česká republika

Abstrakt

This thesis summarizes the documented information on the distribution of *Cardamine dentata* Schult. of the family *Brassicaceae* in the Czech Republic; it deals with the chromosome numbers and with ploidy levels of this species. Microsatellite markers were used to evaluate the potential relationships of *C. dentata* with other species of the group *C. pratensis*.

Using a revision of available herbarium material it was found that the optimal conditions for the occurrence of *C. dentata* in the Czech Republic are in the phytogeographical regions of Thermophyticum and Mezophyticum at altitudes of 150–650 m a.s.l.

No karyological data on this species were previously published from the area of the Czech Republic; using the flow cytometry and chromosomes counting it was revealed that in the area of the Czech Republic, populations with decaploid and undecaploid levels of ploidy occur.

With help of microsatellite markers, it was confirmed that plants of *C. dentata* are genetically different from the other species of the *C. pratensis* group.

Keywords: *Cardamine*, *Cruciferae*, microsatellite markers, chromosome numbers, geographical distribution, Czech Republic

Obsah

1. Úvod	8
1.1 Rod <i>Cardamine</i> L.	9
1.2 Polyploidie a počty chromozomů v rodu <i>Cardamine</i>	10
1.3 Velikost genomu v rodu <i>Cardamine</i>	12
1.4 Molekulární analýzy v rodu <i>Cardamine</i> a ve skupině <i>C. pratensis</i>	12
1.5 Analýza původu polyploidů	13
1.6 Představení <i>Cardamine dentata</i> Schult.	17
1.6.1 Popis rostliny	17
1.7 Historie taxonomie	17
1.7.1 Synonymika <i>Cardamine dentata</i>	18
1.8 Počty chromozomů	19
1.9 Rozšíření <i>Cardamine dentata</i> Schult. v ČR	19
2. Materiál a metody	21
2.1 Výběr lokalit a sběr studovaného materiálu	21
2.2 Metody	27
2.2.1 Metoda průtokové cytometrie	27
2.2.2 Počty chromozomů	29
2.2.3 Mikrosatelity	29
2.2.3.1 Izolace DNA z materiálu <i>Cardamine</i>	30
2.2.3.2 Měření koncentrace DNA	31
2.2.3.3 Ověření kvality DNA	31
2.2.3.4 Testování mikrosatelitů cross-amplification	32
2.2.4 Statistické vyhodnocení mikrosatelitových dat	35
2.2.4.1 Analýza privátních alel	35
2.2.4.2 Program PAST 3.0	35
2.2.4.3 Program FAMD 1. 31	36
2.2.4.4 Skript AFLPdat v prostředí programu R	36
2.2.4.5 Program STRUCTURE	36
2.2.4.6 Program Distruct	37
3.0 Dosažené výsledky	38
3. 1. Rozšíření <i>Cardamine dentata</i> Schult. v ČR	38
3.1.1 Výskyt <i>Cardamine dentata</i> Schult. podle nadmořské výšky na území České republiky	38
3. 1. 2 Revidované lokality rozdělené dle fyto geografie	40
3.2 Výsledky průtokové cytometrie	40

3.3 Výsledky počítání chromozomů	41
3.4 Výsledky statistického vyhodnocení mikrosatelitových dat.....	45
3.4.1 Výsledky analýzy privátních alel	45
3.4.2 Výsledky analýzy hlavních koordinát (PCoA).....	46
3.4.2 Výsledky analýzy Neighbour Joining Tree	49
3.4.3 Výsledky počtu genotypů v populaci - genotypová diverzita.....	50
3.4.4 Výsledky analýzy pomocí skriptu Structure-sum pro celý dataset.....	52
3.4.5 Výsledky skriptu Structure-sum pro populace <i>C. dentata</i>	53
3.4.6 Výsledky programu Distruct pro celý dataset	54
3.4.7 Výsledky programu Distruct pro populace <i>C. dentata</i>	54
4. Diskuse.....	57
4.1 Zhodnocení výsledků mikrosatelitových markerů.....	57
4.2 Ploidie a chromozomové počty	59
4.3 Zhodnocení míry ohrožení druhu <i>C. dentata</i> v Česku	61
4.4 Rozšíření <i>C. dentata</i> v ČR.....	61
4.4.1 Zhodnocení výskytu <i>C. dentata</i> z hlediska fytogeografie	61
5. Závěr.....	66
6. Použitá literatura a zdroje.....	67
6.1 Literatura	67
6.2 Elektronické zdroje	79
7. Přílohy.....	80
7.1 Chromozomové počty	80
7.2 Seznam navštívených lokalit.....	85
7.3 Revidované lokality	87
7.4 Vypracované mapy rozšíření na základě revize herbářových položek	95
7.5 Primární data z průtokové cytometrie	101

1. Úvod

Cardamine dentata Schult. patří do velké skupiny *C. pratensis* agg., která zahrnuje 10 druhů, jmenovitě *C. pratensis* L., *C. apennina* Lihová et Marhold, *C. castellana* Lihová et Marhold, *C. crassifolia* Pour., *C. dentata* Schult., *C. granulosa* All., *C. mathioli* Moretti, *C. majovskyi* Marhold et Záborský, *C. nymanii* Gand. a *C. rivularis* Schur (Marhold 1994b, Lihová & Marhold 2006). Druh *Cardamine pratensis* v nejužším pojetí zahrnuje několik ploidních úrovní od diploidů po pentaploidy, včetně dysploidních populací a aneuploidních rostlin. Jde o poměrně rozšířený druh, přítomný téměř na celém evropském kontinentu. Druh *C. dentata* zahrnuje oktaploidy až dodekaploidy, včetně téměř všech možných aneuploidních počtů mezi těmito dvěma ploidními úrovněmi. *C. dentata* se vyskytuje převážně v severní Evropě a severní Asii, ve střední Evropě je výskyt tohoto druhu omezen zejména na okolí větších řek jako Morava, Dunaj, Tisa a Labe. Načež z České republiky, kromě dat uveřejněných v díle Květena ČR 3 (Tomšovic in Hejny & Slavík 2003) a těch, které z Moravy publikoval Bureš (1996), nejsou známy přesné a zejména recentní údaje o rozšíření tohoto druhu. V některých pracích (například ve flórách z území Britských ostrovů) autoři vyjadřují pochybnosti ohledně možnosti morfologického rozlišení druhů *C. pratensis* a *C. dentata*, případně ke spolehlivosti určovacích znaků druhu *C. dentata*, vzhledem k existenci přechodných morfotypů. Tyto pochybnosti mohou být způsobeny přítomností heptaploidního cytotypu na Britských ostrovech, který má zřejmě morfologické znaky přechodné mezi druhy *C. dentata* a *C. pratensis* (Karol Marhold, ústní sdělení). Na kontaktu druhů *C. pratensis* a *C. dentata* v severní Evropě dochází k jejich časté hybridizaci. Hybridy těchto druhů jsou uváděny i z České republiky pod neplatně uveřejněným jménem *C. ×rohlena* Domin. Nedávná studie hybridních populací druhů *Cardamine amara* a *C. pratensis* na lokalitě Unerboden ve Švýcarsku identifikovala mikrosatelity vhodné na analýzy vztahů v celé skupině *C. pratensis*, které by se daly použít i ke studiu původu a hybridizace druhů *C. pratensis* a *C. dentata*. Z těchto důvodů byla tato předkládaná práce zaměřena na upřesnění historického a zejména současného rozšíření druhu *C. dentata* na území České republiky, na základě spolehlivě určitelných herbářových dokladů. Další zaměření bylo na to, jestli české a slovenské populace *C. dentata* s morfologicky definovanými znaky uvedenými v článku Marhold (1994b) skutečně odpovídají vyšším polyploidním úrovním a jestli ve srovnání s populacemi jiných druhů skupiny *C. pratensis* ze střední Evropy (zejména *C. mathioli*, *C. majovskyi*, *C. pratensis* a *C. rivularis*) tvoří geneticky vymezenou skupinu populací. K tomu bylo využito metody studia herbářových dokladů ve veřejných herbářových sbírkách, počítání

chromozomů, průtokové cytometrie a analýzy mikrosatelitových dat. Tato práce je součástí řešení projektů financovaných Grantovou agenturou České republiky a částečně též slovenskou Agenturou na podporu výzkumu a vývoje, vedených školitelem této diplomové práce a s řešiteli těchto projektů bylo úzce spolupracováno.

1.1 Rod *Cardamine* L.

Rod *Cardamine* L. zahrnuje přibližně 200 druhů, z toho 17 bylo v minulosti někdy bráno jako samostatný rod *Dentaria* L. (Marhold 1994b). Je to jeden z největších rodů čeledi *Brassicaceae*, který je rozšířený po celém světě na všech kontinentech kromě Antarktidy (Al-Shehbaz 1988). Monofyletičnost rodu *Cardamine* byla prokázána v několika studiích, které také ukázaly jeho blízkou příbuznost s rody *Nasturtium* W. T. Aiton, *Barbarea* R. Br., *A Armoracia* P. Gaertn., B. Mey. Scherb., a *Rorippa* Scop. (Koch & al. 2001, Koch 2003, Mitchell & Heenan 2000, Sweeney & Price 2000). Podle dvou posledních odhadů druhů je v rámci rodu *Cardamine* počtu kolem 160 až 200 druhů (Al-Shehbaz 1988). Počet rozpoznávaných druhů, závisí na taxonomickém zpracování několika složitých skupin, které se liší mezi autory. Na druhé straně je taxonomické pojetí značně ovlivněno aktuální znalostí morfologické a genetické variability rodu v různých částech jeho areálu. Což dokládá nedávná taxonomická revize v Evropě, zejména ve Středomoří. V roce 1993, ve Flora Europaea (Jones & Akeroyd 1993) je uvedeno 31 druhů. Od té doby, detailní morfologické, molekulární a karyologické studie vedly k rozpoznání několika nových druhů (Cesca & Peruzzi 2002, Lihová & al. 2003, Lihová & Tribsch 2004, Marhold & al. 2003, Marhold & Záborský 1986) nebo jejich znovuobjevení (Marhol & Ančev 1999). Jako výsledek máme dnes v Evropě 54 dobře definovaných druhů rodu *Cardamine*. Další příklad naznačující mnohem vyšší rozmanitost druhů, než se předpokládalo v minulosti, je z Nového Zélandu. Pouze pět původních a tři zavlečené druhy rodu *Cardamine* jsou uvedeny ve flóře Nového Zélandu (Webb & al. 1988). Nicméně, díky revizi započaté v roce 1996, skutečný počet rozpoznávaných druhů, které jsou formálně popsány a pojmenovány je 31 (Heenan 2017). Díky kosmopolitnímu rozšíření rodu, přítomnosti několika endemitů na každém kontinentu, omezeným datům o genetické rozmanitosti a fylogenetických vztazích v rámci rodu není možné určit s jistotou centrum jeho rozšíření ve světě. Nicméně hlavní centra druhové rozmanitosti lze odvodit od celkového počtu druhů a množství místních endemitů. Pravděpodobně budou na Dálném Východě a v Himalájích, kde je přibližně 70 zástupců (Al-Shehbaz 1988). Kromě toho je důležitá oblast evropského Středomoří a Kavkazu s přibližně 49 druhy, podobně je tomu v Severní a Střední Americe, kde je přibližně 50 druhů (Rollins

1993). Jediná monografie pokrývající celou oblast rozšíření rodu *Cardamine* byla publikována O. E. Schulzem (Schulz 1903), který také navrhl taxonomické pojetí. Rod rozdělil na 13 sekcí, z čehož šest bylo monotypických. Tato dílčí klasifikace na základě morfologie oddenku, placenty, rozložení děložních lístků a počet vajíček v semeníku, nereflektovala fylogenetické vztahy. Monofyletičnost několika sekcí, byla vyvrácena molekulárními studii (sekce *Cardamine* L., *Papyrophyllum* O. E. Schulz, *Dentaria* (L.) O. E. Schulz, *Cardaminella* Prantl; Bleeker & al. 2002, Franzke & al. 1998, Sweeney & Price 2000), ale dosud byla analyzována jen nedostatečná část rodu na to, aby bylo možno navrhnout přirozené rozdělení. Skupina *Cardamine pratensis* agg. je rozšířena v celé Evropě a její areál zasahuje až do východní Asie. Někteří zástupci z této skupiny jako jsou *C. nymanii* a *C. pratensis* byli zavlečeni i do Severní Ameriky (<http://www.efloras.org>).

1.2 Polyploidie a počty chromozomů v rodu *Cardamine*

Variabilita počtu chromozomů v rodu *Cardamine* je obrovská vzhledem k výskytu několika cytogenetických jevů jako je polyploidie, aneuploidie a dysploidie. Mnoho autorů studovalo chromozomové počty druhů tohoto rodu (Kučera & al. 2005 uvádějí 3020 zveřejněných chromozomových počtů). První studie, prezentující počty chromozomů rodu *Cardamine*, byly uveřejněny ve dvacátých a třicátých letech minulého století (Manton 1932, Rohweder 1937, Schwarzenbach 1922). Mitotické chromozomy jsou velmi malé (často menší než 1 μm), což dělá podrobnější cytologické studie velmi obtížné. Podrobné studie karyotypu byly provedeny pouze ve skupině *C. pratensis* (Urbanska-Worytkiewicz & Landolt 1974a,b). Bylo zvažováno pět základních chromozomových čísel ($x = 6, 7, 8, 10, 12$). Nicméně, většina zaznamenaných počtů chromozomů, je založena na $x = 8$, pro diploidy byly publikovány pouze dva záznamy s méně než 16 chromozomy. Počet $2n = 12$ byl zveřejněn pro kavkazský druh *C. seidlitziana* Albov (Davlianidze 1980) z regionu Svanetie ve Velkém Kavkazu, zde půjde zřejmě ale o omyl v počítání (Kučera & al. 2005). Dva záznamy existují pro převážně severoitalský druh *C. asarifolia*, $2n = 16$ (Manton 1932) a $2n = 14$ (Lawrence 1931) jsou ale založeny na rostlinách neznámého původu získaných z botanických zahrad. Skutečný počet chromozomů tohoto druhu je $2n = 48$ (Lihová & al. 2004). Na vyšších ploidních úrovních je situace jiná. Zatímco se ve skupině *C. pratensis* na diploidní úrovni nachází pouze $2n = 16$ (kromě aneuploidie, která odpovídá $2n = 17-21$), z různých částí Evropy byly u této skupiny druhů opakovaně zjištěny dva tetraploidní počty chromozomů $2n = 30$ a $2n = 32$ (Lihová & Marhold 2003, Lövkvist 1956, Marhold 1994a, Marhold 2000).

Již v roce 1931 Lawrence zjistil, na základě morfologie chromozomů, že díky splýnutí chromozomů vzniká chromozomová sada se sedmi chromozomy (Lawrence 1931). Dva výrazně delší chromozomy vznikající s největší pravděpodobností při splývání chromozomů. Byly pozorovány u rostlin s 30 chromozomy, což naznačuje genomové složení ze dvou sedmi a dvou osmi chromozomálních sad. Stejně karyotypové vlastnosti podporující hypotézu o dysploidii byly později uvedeny také v cytogenetické studii od Urbanska-Worytkiewicz a Landolta (Urbanska-Worytkiewicz & Landolt 1974a,b). Toto zjištění je podporováno variabilitou chromozomových počtů na vyšších ploidních úrovních v rámci skupiny *C. pratensis*, kde hypohexaploidní počty jako $2n = 44$ (spolu s obvyklým hexaploidním $2n = 48$) lze vysvětlit pomocí kombinace sad chromozomů s osmi a sedmi chromozomy (Lövkvist 1956). Lawrenceova hypotéza byla potvrzena novějšími postupy studie genomu, které jednoznačně potvrdily splývání chromozomů a vysvětlily tak část variability počtů chromozomů na vyšších ploidních úrovních (Mandáková & al. 2013). Zejména použití prozatím nejlepších možných metod jako jsou srovnávací genetické mapování (Hall et al 2002), značení chromozomů a genomická in situ hybridizace (GISH) byly velmi užitečné nejen při řešení tohoto problému, ale také např. by mohly v budoucnosti vysvětlit původ předpokládaných vyšších základních počtů chromozomů $x = 10$ a 12 (Al-Shehbaz 1988) a sledovat evoluci karyotypu v rodu. Tyto techniky byly úspěšně použity i při studiu druhu *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. a jeho blízkých nebo vzdálenějších příbuzných, např. *Capsella Medik.*, *Erebus L.* (Boivin & al. 2004, Koch & Kiefer 2005, Kuittinen & al. 2004, Lysak & al. 2005, Lysak & al. 2003).

Aneuploidie byla pozorována u diploidních zástupců skupiny *Cardamine pratensis* (Marhold 1994b, Urbanska-Worytkiewicz & Landolt 1974). S největší pravděpodobností je to běžné také u dalších členů rodu, a to zejména na vyšších úrovních ploidie. Nedávná měření obsahu jaderné DNA průtokovou cytometrií, kdy byly studovány východoasijské polyploidní rostliny *C. yezoensis* a *C. torrentis* Nakai, odhalila nejen různé úrovně ploidie v rámci druhu, ale také rozdíly v obsahu jaderné DNA v rámci jedné ploidní úrovně, což s největší pravděpodobností můžeme také přičíst aneuploidii (Marhold & al. 2010). Velmi vysoké polyploidní počty chromozomů ($>2n = 100$) byly publikovány u několika druhů, hlavně těch dříve řazených do samostatného rodu nebo podrodu *Dentaria* např. ca. 208 v *Cardamine maxima* (Nutt.) Alph. Wood (Montgomery 1955) a $2n =$ ca. 160 v *C. battagliae* Cesca et Peruzzi (Cesca & Peruzzi 2002). Nejvyšší známý počet chromozomů v čeledi byl zjištěný v Severní Americe *C. diphylla* a *C. concatenata* (= *D. laciniata* Willd.), oba druhy měly přibližně $2n = 256$ nebo $n =$

128, což odpovídá 32ploidní úrovni (Al-Shehbaz 1988, Easterly 1963). Nicméně, u předchozích druhů existují značné intrapopulační a dokonce i intraindividuální rozdíly v chromozomových počtech, a proto je obtížné posoudit, zda vysoké počty opravdu představují pravidelné a stabilizované chromozomové sady druhů. Jen 8% druhů rodu *Cardamine* obsahuje zároveň diploidní a polyploidní populace.

1.3 Velikost genomu v rodu *Cardamine*

V některých případech je udáváno více cytotypů v rámci jednoho druhu což může poukazovat na nevyřešenou taxonomii, tj. detailní morfologické a molekulární šetření by mohlo přinést rozpoznatelné patern, odhalit geografické nebo ekologické korelace, a naznačit tak, že různé cytotypy představují ve skutečnosti různé taxonomické a evoluční jednotky. Což bylo nedávno ukázáno na převážně evropském druhu *C. amara*, u kterého je známo, že obsahuje diploidní a tetraploidní populace (Lökvist 1957). Ve skupině druhů příbuzných *C. amara* vznikly v Evropě tetraploidní populace alespoň dvakrát. Kromě toho k této skupině patří ještě východoasijské tetraploidní rostliny *C. valida*, oktoploidní *C. torrentis* a pravděpodobně taky heptaploidní *C. prorepens*. Tetraploidní populace *C. amara* zabírají dobře vymezený prostor, kde diploidi do značné míry chybí. Tetraploidní rostliny, vyskytující se převážně ve Východních Alpách a jejich blízkém okolí, jsou v současné době klasifikovány jako samostatný poddruh, *C. amara* subsp. *austriaca* Marhold (Lihová & al. 2002, 2004, Marhold 1999, Marhold 2002). Na rozdíl od alpských populací tetraploidní populace z Katalánska a střední Itálie (*C. amporitana* Sennen & Pau, Lihová & al. 2004 a, b) jistě vznikly mnohem dříve. Podrobné studie jiných druhů, které obsahují několik cytotypů, může přinést podobné výsledky. Na druhou stranu mnoho polyploidních druhů se dvěma nebo více cytotypy pravděpodobně představuje dynamické systémy, s genovým tokem napříč ploidními úrovněmi, které nakonec končí u životaschopných a stabilní hybridních rojů, jak je uvedeno u *C. dentata* a *C. nymanii* Gand. (Lökvist 1956).

1.4 Molekulární analýzy v rodu *Cardamine* a ve skupině *C. pratensis*

Analýza molekulární variance na základě AFLP (amplified fragment length polymorfism) u *C. pratensis* s. str. v Evropě (s osmi různými cytotypy) naznačuje, že alespoň některé ploidní úrovně, vyskytující se v různých částech Evropy, vznikly vícekrát nezávisle na sobě a existuje zde taky značný genový tok skrz ploidní úrovně (Lihová & al. 2003). Nedávná zjištění jsou v souladu s prvními experimenty křížení rostlin z různých vyšší ploidních úrovní, které do

značné míry vedly k plodnému potomstvu (Lövkvist 1956). Spolu s determinací chromozomových počtů a studiem karyotypu, techniky, které umožňují měření množství DNA v jádře (průtoková cytometrie nebo mikrodenzitometrie), jsou užitečné nástroje pro studium cytogenetické rozmanitosti (Bennett & Leitch 2005, Doležel & Bartoš 2005). Mezi diploidními druhy rodu *Cardamine*, jen tři, *C. amara* a *C. hirsuta* a *C. impatiens*, byly analyzovány na absolutní velikost genomu. Byly zjištěny velmi nízké hodnoty, které patří mezi nejmenší v rámci krytosemenných rostlin ($1C = 0.21-0.24$ pg; Bennett & Leitch 2003, Johnston 2004). Příklady z jiných rodů ukazují, že značné rozdíly se obvykle vyskytují v rámci rodu (Bureš & al. 2004, Cerbah & al. 1999, Neuffer & Jahncke 1997), na základě čehož se dají rozdíly ve velikosti genomu očekávat také u rodu *Cardamine*.

1.5 Analýza původu polyploidů

Vysoké procento polyploidů jasně ukazuje, že polyploidie musí být zásadním evolučním mechanismem v tomto rodu. První pokusy odhalit polyploidní původ konkrétních druhů a určit jejich předky závisí na morfologických a cytogenetických znacích (karyotyp, chování chromozomů při meióze, míra plodnosti, experimenty křížení nebo uměle vyvolanou polyploidii atd.; Levin 2002). I přes široký výskyt polyploidie bylo provedeno jen málo studií na jedincích rodu *Cardamine* zkoumajících původ polyploidních druhů. Fenotypové rozdíly mezi diploidními a uměle vyrobenými autotetraploidními a autooktoploidními jedinci byly studovány Lövkvistem ve studii *C. amara* (Lövkvist 1957), ale pozorování nebyla vztažena k volně žijícím tetraploidním populacím. *Cardamine flexuosa* je převážně evropský, široce rozšířený tetraploid a předpokládalo se, že může být autopolyploidním derivátem diploidní *C. hirsuta* (Banach 1950), a to pouze na základě morfologické podobnosti. Později Ellis a Jones (Ellis 1969) vyprodukovali autotetraploidní jedince *C. hirsuta*, stejně jako hybridy mezi druhy *C. hirsuta* a *C. flexuosa*. Jejich studie zvažovala morfologické vlastnosti a údaje o geografické distribuci několika možných diploidů a navrhli allotetraploidní původ *C. flexuosa* s diploidní *C. hirsuta* a *C. impatiens* jako jejími předky. Nedávno však bylo s využitím moderních genomických metod potvrzeno, že rodiči tohoto druhu jsou diploidní *Cardamine amara* a *C. hirsuta* (Mandáková & al. 2014). Dále Lövkvist provedl studii polyploidního komplexu *C. pratensis* (Lövkvist 1956). I když bylo identifikováno několik diploidních populací, žádné jednoznačné diploidně-polyploidní spřízněnosti nebyly nalezeny, takže původ a vývoj polyploidů v této skupině zůstal nevyřešen. Lövkvist (1956) navrhl, že polyploidizace se stále děje uvnitř komplexu, a k odlišení a ustálení nových polyploidních populací je třeba času a prostoru.

V mnoha případech identifikace původu polyploidů může být komplikována skutečností, že původní diploidní předci se buď staly výrazně odlišnými od svých polyploidních potomků, nebo vymřeli. To je pravděpodobně případ severoamerické skupiny *C. concatenata*, v níž jsou dnes známi pouze vysoce polyploidní jedinci a diploidní předci vymřeli s největší pravděpodobností již dávno. Několik studií zkoumající druhy tohoto komplexu ukázalo meiotické nesrovnalosti, částečnou sterilitu v důsledku aborce embrya v některých populacích a účinné vegetativní rozmnožování (Montgomery 1955, Spooner 1984, Sweeney & Price 2001). Na druhou stranu, nedávné allopolyploidizační jevy mohou být snadno rekonstruovatelné. To bylo prokázáno ve studii švýcarských jedinců autoallohexaploidní *C. schulzii* Urbanska (původně udávané jako $2n = 6x = 48$), které podle původního předpokladu (Urbanska-Worytkiewicz & Landolt 1972) vznikly tím, že autopolyploidizoval přírodní triploidní hybrid ($2n = 3x = 24$). Mandáková & al. (2013) nicméně zjistila, že „hexaploid“ má dva cytotypy, hypopentaploidní a hypohehexaploidní ($2n = 38$ a $2n = 46$) a že se na jeho původu kromě triploidního hybridu podílela ještě *C. pratensis* s cytotypem $2n = 30$. Původ *C. schulzii* se projevil nejprve přes jeho strukturu karyotypu: rozdílná velikost mezi chromozomy obou diploidů umožnila identifikaci genomů získaných ze tří rodičovských druhů (*C. amara*, $2n = 16$; *C. rivularis* auct., $2n = 16$ a *C. pratensis*, $2n = 30$). Kromě toho hexaploidní druh roste v těsné blízkosti obou diploidních rodičů a jejich triploidního hybridu (Urbanska-Worytkiewicz 1977).

S příchodem nových cytogenetických a molekulárních technik (izoenzymy, DNA molekulární markery, genomická in situ hybridizace) se dosáhlo významného pokroku při studiu původu a vývoje polyploidů (Levin 2002, Soltis & al. 2004). Bylo prokázáno, a to platí pro i pro rod *Cardamine*, že mnoho polyploidizačních jevů proběhlo v Pleistocénu a souvisí to hlavně s klimatickou oscilací nebo se zaledněním a ústupem ledovců, které výrazně tvarovaly genetickou variabilitu a aktuální geografické rozšíření několika polyploidů předledovcového původu. Allopolyploidní speciace byla zdokumentována na druhu *C. silana* Marhold & Perný z Kalábrie (jižní Itálie), který je tamní endemit (Perný & al. 2005). Sekvence jaderné DNA, AFLP markery a morfologická data poskytla přesvědčivé důkazy o tom, že dva diploidní druhy se podílely na vzniku dvou hexaploidního druhu *C. silana* ($2n = 48$): *C. apennina* Lihová et Marhold z centrální Itálie a balkánský druh *C. acris* Griseb. ITS sekvence jaderné ribozomální DNA (nrDNA) získané z *C. silana* naznačily, že tato oblast DNA, obvykle podrobena homogenizaci sekvencí si stále ještě udržela (alespoň) dvě různé sekvenční varianty. Jedna varianta ITS sekvence pochází z *C. apennina* (Lihová & al. 2004, Perný & al.

2005), zatímco druhá je sdílena s několika dalšími druhy. AFLP představující variabilitu distribuovanou po celém genomu, odhalila silnou afinitu k balkánské *C. acris*. Podle fenotypických znaků, *C. silana* sdílí znaky s oběma diploidy. Cytogenetické analýzy těchto druhů podle genomové in situ hybridizace (GISH) by nakonec mohly definitivně potvrdit původ *C. silana*. Díky geografickému oddělení se předpokládá, že rodičovské druhy *C. silana* (*C. acris* a *C. apennina*), jsou izolovány nejen terestrickou disjunkcí, ale také díky kanálu Otranto (Jaderské moře), což může být na první pohled překvapující. Během posledního glaciálního maxima, byla však úroveň hladiny moře podstatně nižší (www.esd.ornl.gov, Frenzel & al. 1992). Existují jasné důkazy o migraci a toku genů mezi poloostrovy (Balkánským a Apeninským), které lze najít ve fylogeografických studiích (Fineschi & al. 2002). Kalábrie je známá jako důležité refugium během klimatických změn v Pleistocénu, kde populace několika druhů, rozšířených ve vyšších zeměpisných šířkách (včetně *C. apennina*) si našly příznivé podmínky během chladnějších období (Fineschi & al. 2002, Palmé et Vendramin 2002, Taberlet & al. 1998). Předkládaná data umožňují pouze spekulovat o tom, kdy a kde se oba rodičovské druhy setkaly a zda nynější populace jsou zbytky dříve více rozšířených druhů. Populace *C. silana* se nezdá být moc geneticky variabilní (jak ukazuje AFLP and cpDNA), ale počet analyzovaných jedinců byl příliš nízký, aby se objasnila její fylogeografická historie.

Otázky týkající se polyploidního původu a biogeografické historie byly nedávno řešeny též u tetraploidního druhu *C. amporitana* ($2n = 32$), u druhu s italsko-katalánským disjunktním rozšířením (Lihová & al. 2004a, b). Sekvenační data získaná z chloroplastu a jaderné DNA ukázala velmi blízký vztah *C. amporitana* k rozšířenému převážně evropskému druhu *C. amara* ($2n = 16, 32$). Nicméně fylogenetická data odvozená z nrDNA ITS a trnL-trnF sekvencí pro konkrétní větve včetně diploidů a polyploidů neumožňuje rozlišovat mezi několika morfologicky dobře odlišenými druhy. AFLP data poskytla mnohem více informací. *C. amporitana* byla určena jako dobře podporovaná a odlišená linie, která se vyznačuje řadou AFLP fragmentů seskupených společně s *C. amara* a kavkazskou diploidní *C. wiedemanniana* Boiss. Všechny dostupné údaje naznačují, že původ *C. amporitana* je ve skupině *C. amara* (tj. *C. amara* a *C. wiedemanniana*) s možností zapojení tetraploidní balkánské *C. barbaraoides* nebo jejich diploidních předků. Kromě toho sekvenace cpDNA a AFLP markery odhalily nízkou genetickou variabilitu v katalánských populacích ve srovnání s italskými populacemi. Byly diskutovány dvě biogeografické hypotézy v kontextu s předchozími molekulárními daty (Lihová & al. 2004a, 2004b): (1) původ je v Itálii a

kolonizace Katalánska proběhla později, a to buď přenosem na dlouhou vzdálenost, nebo migrací přes regiony spojující oba poloostrovy, spojené se snížením genetické rozmanitosti prostřednictvím efektu hrdla lahve; (2) fragmentací původní větší oblasti rozšíření, vymizení spojujících populací a genetickým ochuzením na západní kolonizační trase, pravděpodobně v důsledku kvartérní klimatické oscilace.

Studie různých krytosemenných čeledí naznačují, že autopolyloidie je mnohem více běžná, než se považovala a zřejmě hraje důležitou roli v rostlinné evoluci (Levin 2002, Soltis & al. 2004). Několik studií zabývajících se rodem *Cardamine* přináší důkazy o autopolyloidii. Tetraploidní populace *C. amara* vyskytující se ve Východních Alpách a přilehlých oblastech (*C. amara* subsp. *austriaca*) byly studovány pomocí několika molekulárních markerů, včetně izozymů, jaderné a chloroplastové DNA, RAPD (náhodně amplifikovaná polymorfni DNA) a AFLP (Lihová & al. 2000, 2004, Marhold 1999, Marhold & al. 2002). Výsledky ukazují velmi nízkou genetickou diferenciaci mezi diploidní *C. amara* subsp. *amara* a tetraploidní subsp. *austriaca*. To spolu s mírnou morfologickou diferenciací a jasným geografickým modelem rozšíření, silně podporuje autopolyloidní původ. Další tetraploidní taxon, pro který se jeví autopolyloidní původ jako nejpravděpodobnější je *C. majovskyi*, relativně nedávno popsáný druh vyskytující se ve střední a jihovýchodní Evropě (Marhold & Záborský 1986). *C. majovskyi* a její pravděpodobný předek, diploidní *C. matthioli*, byly zahrnuty do komplexní molekulární systematické a biogeografické studie skupiny *C. pratensis* (Franzke & Hurka 2005), a později pomocí AFLP dat (Lihová & al. 2003). Všechny analýzy zahrnující izoenzymy, jadernou a chloroplastovou DNA, RAPD a AFLP markery ukázaly velmi blízký vztah obou druhů. Pro některé části areálu *C. majovskyi* nejsou zcela známy podrobnosti jejího vzniku, ale sympatrie s *C. matthioli* je již zřejmá. Tato skutečnost, spolu s mírnými morfologickými rozdíly mezi populacemi druhu *C. majovskyi* z různých částí jeho areálu (Lihová & Marhold 2003 a Karol Marhold, ústní sdělení), by mohla naznačovat jeho vícenásobný a opakující se původ.

Franzke a Hurka (2005) ve své studii skupiny *C. pratensis*, se odkázali na otázku položenou Lövkvistem (Lövkvist 1956): Jaký je původ široce rozšířených a karyologicky vysoce variabilních polyploidů této skupiny? Z výsledků několika molekulárních markerů došli k závěru, že polyploidie se vyvinuly opakovaně z diploidů střední Evropy a mohou být považovány za autopolyploidy.

1.6 Představení *Cardamine dentata* Schult.

Cardamine dentata je jeden ze čtyř taxonů patřících do komplexu *C. pratensis* agg. vyskytujících se v České republice. Od ostatních druhů tohoto komplexu se liší tím, že má dlouze řapíkaté lístky všech lodyžních listů, tyto lístky jsou často opadavé, zatímco *Cardamine pratensis*, *C. rivularis* a *C. mathioli* mají jednoduše zpeřené lodyžní listy (včetně nejvyšších lodyžních listů).

1.6.1 Popis rostliny

Vytrvalá (20–) 30–50 cm vysoká rostlina s krátkým a jednoduchým oddenkem. Lodyha je jednoduchá nebo v horní části chudě rozvětvená s 5–7 listy, které jsou nejčastěji (6–) 7–9 cm dlouhé s 3–10 páry řapíkatých lístků, které mají zubatou, eliptickou až okrouhlou čepel. Listy přízemní růžice jsou za květu zachovalé s 3–12 páry řapíkatých lístků, které jsou široce okrouhlé. Terminální lístky listů, jak přízemní růžice, tak i stonků, jsou mnohem větší než postranní lístky. Lístky všech listů jsou snadno opadavé. Korunní lístky jsou obvejčité, (11–) 13–16 (–19) mm dlouhé s bílou nebo narůžovělou barvou. Plodem je šešule 35–50 mm dlouhé, 1,2–1,5 mm široké. Kvete v druhé polovině května až první polovině června. Roste v bažinách nebo na okraji stojatých vod, nejčastěji přímo na trsech velkých ostřic nebo v olšínách a lužních lesích. Ve společenstvech řádu *Magnocaricetalia* a svazů *Alnion glutinosae* a *Alno-Ulmion* (převážně podsvaz *Alnenion glutinoso incanae*) (Tomšovic in Hejný et. Slavík 2003).

1.7 Historie taxonomie

První, kdo popsal druh *Cardamine dentata*, byl v roce 1809 Schultes. Ten považoval přítomnost lodyžních listů s dlouze řapíkatými a zubatými lístky za charakteristický znak rozlišující *C. dentata* od *C. pratensis* (Wójcicki & Marhold 2000): „Stolonifera, foliis pinnatis, foliolis radicalibus subrotundis, angulato-carnosulis, caulinis oblongis, subsinuato-dentalis, petiolatis, extimo majore subtridentato...“ (Schultes 1809). Dlouze řapíkaté a zubaté lístky lodyžních listů představují nejlepší znak pro poznávání tohoto druhu, avšak je možné, že někteří autoři (Knaf 1846, Peterman 1846, Hallier 1866) si v minulosti špatně vysvětlili charakteristiku *C. dentata* a místo lodyžních listů se zaměřili na listy bazální růžice a díky tomu vznikly různé názvy pro jednu a tu samou rostlinu. Například Peterman popsal *C. palustris*. Do tohoto druhu zahrnul rostliny, které měly charakteristické lodyžní listy, ale i rostliny, které měly charakteristické všechny listy na rostlině včetně listové růžice (Peterman

1846). Jeho koncept *C. palustris* byl širší než koncept Schultesovy *C. dentata*. Lövkvist považoval jméno *C. dentata* za matoucí a místo něho přijal jméno *Cardamine palustris* Peterm. za správné jméno pro tento taxon (Lövkvist 1956). To samozřejmě ovlivnilo pozdější autory např.: Jonese (Jones 1964).

1.7.1 Synonymika *Cardamine dentata*

Cardamine dentata Schult., Observationes Botanicae, 126, 1809. Ind. loc.: Omnes hic enarratae species tres ad rivulos Galiciae.

≡ *Cardamine pratensis* var. *dentata* (Schult.) Wimm. et Grab., Flora Silesiae 1: 266, 1829.

≡ *Cardamine pratensis* subsp. *dentata* (Schult.) Čelak., Prodrumus d. Flora v. Böhmen 450, 1875.

= *Cardamine pratensis* var. *palustris* Wimm. et Grab., Flora Silesiae 1: 266, 1829. Ind. loc.: [Silesia].

≡ *Cardamine dentata* var. *palustris* (Wimm. et Grab.) Kathri, Feddes repertorium, 97:281, 1986.

≡ *Cardamine pratensis* subsp. *palustris* (Wimm. et Grab.) Janchen, Phytion, 8:236, 1959.

= *Cardamine palustris* Peterm., Botanische Centralblatt Deutschlands 1: 47-48, 1846. Ind. loc.: Zschocher bei Leipzig.

= *Cardamine paludosa* Knaf, Flora 29: 293, 1846. Ind. loc.: auf Sumfwiesen bei Jaromierz.

≡ *Cardamine pratensis* subsp. *paludosa* (Knaf) Čelak., Živa, 4:78, 1870.

= *Cardamine grandiflora* Hallier, Botanische Zeitung, 24:209, 1866. Ind. loc.: Sachsensümpfe.

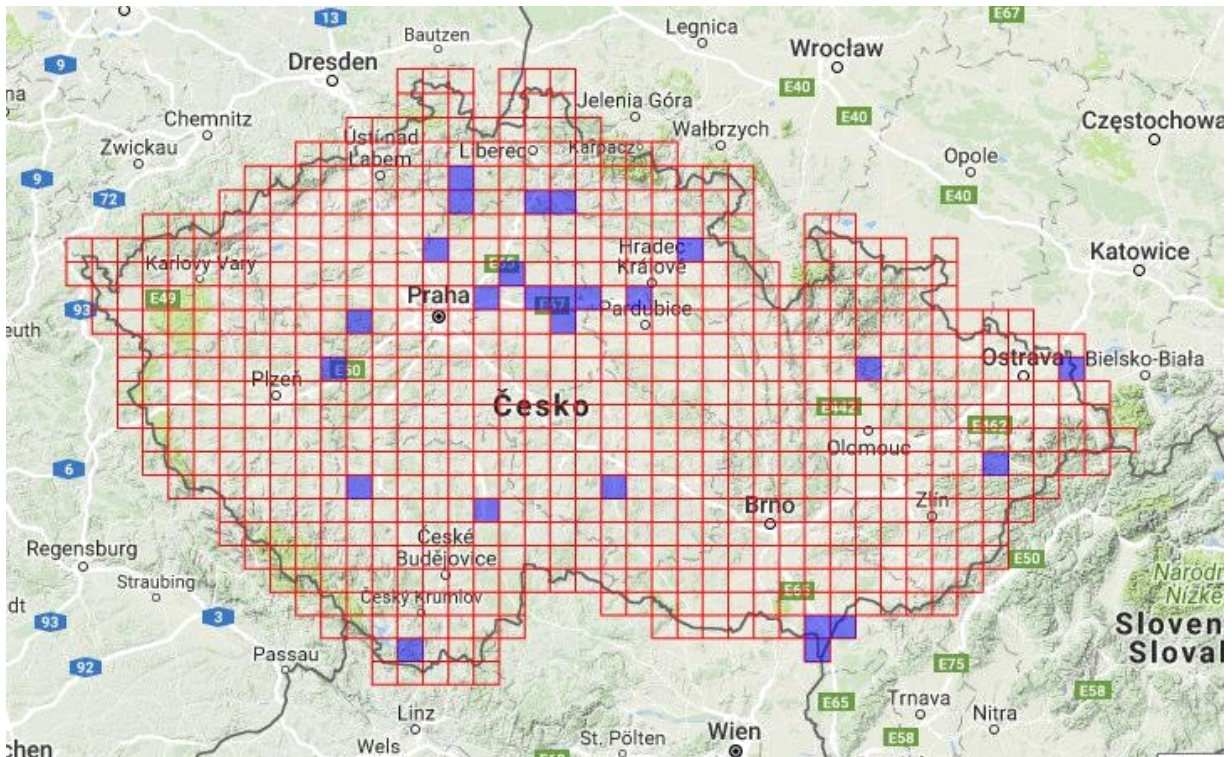
Na úrovni poddruhu *Cardamine pratensis* je správné pouze jméno *C. pratensis* subsp. *paludosa* (Knaf) Čelak., které má prioritu, protože Čelakovský je platně uveřejnil již v roce 1870.

1.8 Počty chromozomů

Cardamine dentata Schult. je vysoce polyploidní taxon s počty chromozomů od 56 do přibližně 113 (Jalas et Suominen 1994). Tento rozsah počtu chromozomů zahrnuje kromě polyploidů také dysploidy a aneuploidy. Nejrozsáhlejší práci o chromozomových počtech publikoval Lövkvist (1956). Došel k závěru, že se mezi oktoploidními jedinci a vyššími polyploidy v rámci *C. dentata* nevyskytuje žádná bariéra, která by způsobovala sterilitu (Lövkvist 1956, 1958). Klíčovou roli pro šíření aneuploidních rostlin s různými počty chromozomů má vegetativní rozmnožování, které se děje pomocí pupenů vznikajících na listech bazální růžice a také v paždí listů na stonku. Další práce, která se zabývá počty chromozomů, byla publikována Banachovou (Banach 1951). Tvrdí, že na území Polska pro rostliny druhu *C. pratensis* je charakteristická řada počtů chromozomů $2n = 30, 32, 38, 44, 50, 58$ a 64 , zatím co pro druh *C. dentata* je charakteristická řada počtů chromozomů $2n = 68, 72, 76$ a 78 (Banach 1951). Rostliny druhu *C. pratensis* s počty chromozomů $2n = 64$ však vykazují morfologické znaky druhu *C. dentata* (Marhold 1984). Literární údaje o počtech chromozomů *Cardamine dentata* Schult. jsou uvedeny v tabulce v kapitole Přílohy.

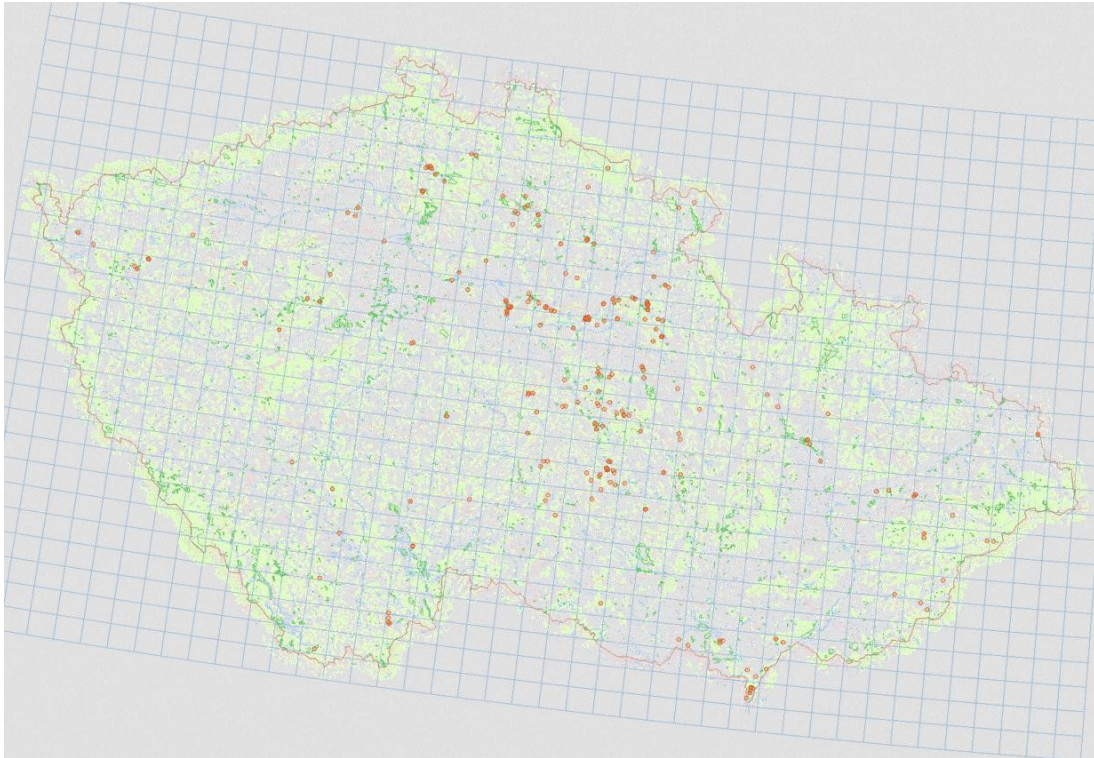
1.9 Rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR

Celkově je *Cardamine dentata* rozšířena v severní, centrální a jižní Evropě, přes západní a



centrální Sibiř až na Kamčatku, Kurilské ostrovy a ostrov Sachalin (Khatri 1987), také je

rozšířena v Severní Americe (Hegi 1924). V České republice se *C. dentata* vyskytuje hlavně ve středních a jižních Čechách a na jižní Moravě. Vyskytuje se roztroušeně až ojediněle, od nižších poloh do pahorkatin, maximálně do 650 m n. m. - Kameničky (Tomšovic in Hejný et.



Slavík 2003).

Obrázek 1: (<http://quick.florabase.cz>) Mapa získaná z České národní floristické databáze – ČNFD. Modrou barvou jsou vyznačeny mapovací čtverce, ve kterých je výskyt tohoto druhu evidován. Z pohledu informace o výskytu se jedná o poměrně nekompletní data.

Obrázek 2: [<http://www.ochranaprirody.cz/>] (© AOPK ČR 2017, podkladová data © ČÚZK)] Další mapa, tentokrát získaná exportem z nálezové databáze ochrany přírody (NDOP AOPK ČR). Tentokrát se jedná o data získaná převážně z floristických kurzů, mapováním biotopů NATURA a inventarizačními průzkumy v chráněných územích. Jelikož ve většině případů chybí herbářová položka, jedná se opět o nespolehlivá data.

Cíle práce

1. Upřesnit historický a zejména současný stav rozšíření druhu rozšíření *C. dentata* na základě revize položek z herbářů a vlastních sběrů

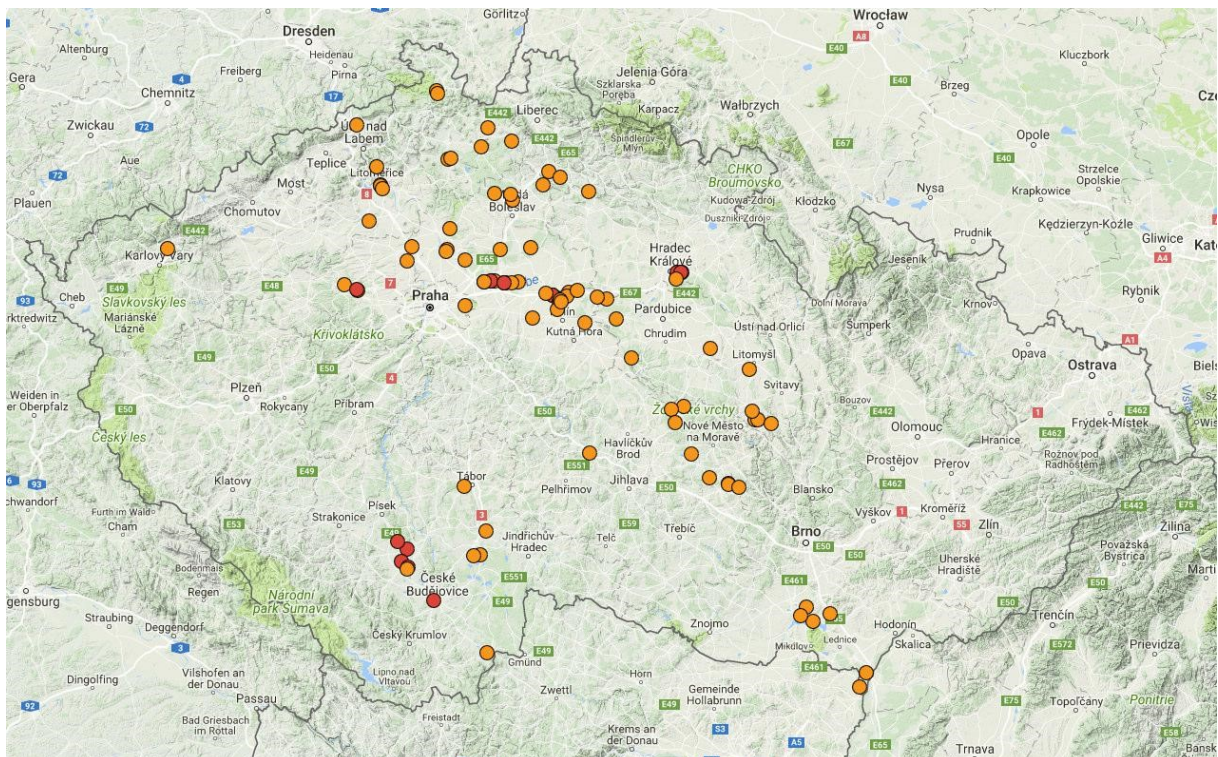
2. Vzhledem k markantnímu úbytku lokalit zhodnotit míru ohrožení druhu *C. dentata* v Česku
3. Přiblížit jaké chromozomové počty a ploidní úrovně se vyskytují v České republice
4. Porovnat variabilitu mikrosatelitových lokusů mezi *C. dentata* a *C. pratensis* z různých oblastí Evropy a na základě podobnosti odvodit původ *C. dentata*

2. Materiál a metody

2.1 Výběr lokalit a sběr studovaného materiálu

V letech 2014 – 2015 byly v rámci projektu vedeného školitelem této práce nasbírány vzorky rostlin ze skupiny *C. pratensis* agg. z celkem 42 lokalit na území České republiky, Slovenska, Německa, Rakouska, Maďarska, Slovinska, Belgie, Bulharska, Rumunska, Švýcarska, Ukrajiny a Norska.

Lokality v České republice byly získány revizí herbářových položek v jednotlivých muzejních a univerzitních herbářích. Jedná se o herbáře BRNM, BRNU, CB, CELM, LIM, LIT, OLM, PR, PRC, ROZ. Z celkem 211 získaných lokalit bylo autorem této práce navštíveno 88. Využily se i data, která publikoval z Moravy Bureš (1996). Lokality byly vybírané na základě aktuálnosti sběrů, protože ale těchto lokalit bylo méně, byly navštíveny i lokality starší, které byly poblíž těch aktuálních. Tabulka č. 12 obsahující seznam navštívených lokalit se nachází v kapitole Přílohy.



Obrázek 3: Mapa navštívených lokalit *C. dentata* v České republice. Červeně jsou označeny ty lokality, kde se *C. dentata* nacházela.

Příslušnost rostlin do druhu *C. dentata* byla posuzována na základě znaků uvedených v článku Marhold (1994b). Všechny rostliny byly sbírané v období od první poloviny dubna do první poloviny června. Z každé populace byly odebrány vzorky z maximálně 15 rostlin, pokud to bylo možné. Herbářové položky z jednotlivých lokalit budou uloženy v herbářových sbírkách katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (PRC).

Pro metodu průtokové cytometrie byl z každé rostliny odebrán jeden květ (výjimečně, když rostlina neměla květy, byl použit list nebo část stonku). Odebraný květ byl zabalen do vlhkého papírového kapesníčku, přelepen páskou s popiskem, ke které rostlině v populaci patří. Následně byl takto připravený vzorek uchováván v ledničce, dokud nebyl použitý k měření na cytometru.

Pro metodu počítání chromozomů byla odstříhnutá přízemní růžice a zasazena do květináče, kde byla pěstována do doby, než byla použita na analýzu.

Pro metodu mikrosatelitů byl z každé rostliny odebrán list listové růžice, který byl vložen do čajového sáčku a uložen do krabičky se silikagelem. Jak už bylo uvedeno výše, využil se i materiál, který byl nasbíraný v rámci širšího projektu pojednávajícího o rodě *Cardamine*, který se řeší v Centru biologie rostlin a biodiverzity SAV v Bratislavě pod vedením školitele této práce. Celkem bylo metodou mikrosatelitů analyzováno 331 jedinců ze 42 lokalit.

Tabulka 1: Přehled analyzovaných jedinců a jejich lokalit

Taxon	Kód vzorku	Počet vzorků na msat	Ploidie	Chromozomy	Lokalita	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Sběratel
<i>C. majovskyi</i>	BOZ	8	4x	32	HU - Borsód-Abaúj-Zemplén, okres Sátoraljaújhely, Bózsza, 172 m n. m.	48° 28' 22.6"	21° 28' 26.4"	Kačmarová T.
<i>C. dentata</i>	CD1	8	10x	~84	CZ - Střední Čechy, Libický luh - Havrany, S od Velkého Oseka, 201 m n. m.	50° 6' 20.8"	15° 11' 25.3"	Holič F.
<i>C. dentata</i>	CD2	8	10x	84	CZ - Střední Čechy, Semice, Semická tůň, malý lesík ve slepém rameni Labe, 176 m n. m.	50° 10' 10.5"	14° 52' 10.2"	Holič F.
<i>C. dentata</i>	CD3	8	10x	~78	CZ - Střední Čechy, Semice, Semická tůň, na druhém konci slepého ramene Labe, 175 m n. m.	50° 10' 08.9"	14° 51' 57.6"	Holič F.
<i>C. pratensis</i>	CD3	2	4x	30	CZ - Střední Čechy, Semice, Semická tůň, na druhém konci slepého ramene Labe, 175 m n. m.	50° 10' 08.9"	14° 51' 57.6"	Holič F.
<i>C. dentata</i>	CD4	8	10x	74	CZ - Hradec Králové, Malšovice, v příbřežních porostech blízko stavidla na řece Orlici, 231 m n. m.	50° 12' 31.6"	15° 51' 33.6"	Holič F.
<i>C. dentata</i>	CD5	9	8-11x	84 (~88)	CZ - Střední Čechy, Čelákovice - Grádo, malý lesík mezi slepým ramenem a cestou do Káraného, 173 m n. m.	50° 10' 27.4"	14° 45' 06.4"	Holič F.
<i>C. dentata</i>	CD6	8	10x	~82	CZ - Jižní Čechy, České Budějovice, lužní les na východní straně Podhorského rybníka, 431 m n. m.	49° 10' 29.8"	14° 18' 22.3"	Holič F.
<i>C. pratensis</i>	CD6	2	4x	30	CZ - Jižní Čechy, České Budějovice, lužní les na východní straně Podhorského rybníka, 431 m n. m.	49° 10' 29.8"	14° 18' 22.3"	Holič F.
<i>C. pratensis</i>	CES	9	4x	30	SI - Jižní Slovinsko, okres Trebnje, 320 m n. m.	45° 56' 24.9"	14° 53' 23.0"	Šingliarová B., Kačmarová T., Olšovská K.
<i>C. pratensis</i>	CP5	8	4x	30	CZ - Ústí nad Labem, Babinské louky, cca 3,5 km J	50° 35' 53.3"	14° 07' 38.5"	Holič F.

					od Malečova, 537 m n. m.			
<i>C. dentata</i>	CSB	7	10x	74, 76	CZ - Jižní Čechy, České Budějovice, Výstaviště, na břehu malého jezírka, 382 m n. m.	48° 58' 52.0"	14° 27' 33.2"	Holič F.
<i>C. pratensis</i>	DE3	7	4x	30	BE - Liege Prov. Soumagne, Cerexhe-Heuseux, louky u dálničního hotelu, 229 m n. m.	50° 39' 19.7"	5° 42' 37.9"	Marhold K., Kolář F., Závěská E., Fuxová G.
<i>C. pratensis</i>	DE9	8	2x	16	DE - Hesse, Fulda, kopec Steinkopf, J od Ehrenbergu, pastviny vedle bukového lesa, 807 m n. m.	50° 28' 30.8"	10° 00' 41.0"	Marhold K., Kolář F., Závěská E.
<i>C. pratensis</i>	DEM	7	6x	44	SK - Nízke Tatry, Demänová, J od vesnice, u cesty do Demänové doliny, 654 m n. m.	49° 02' 53.7"	19° 34' 45.0"	Olšavská K.
<i>C. dentata</i>	DIV	4	10x	85	CZ - Jižní Čechy, České Budejovice, lužní les mezi cestou a rybníkem JZ od Dívčic, 397 m n. m.	49° 06' 27.6"	14° 18' 29.1"	Holič F.
<i>C. matthioli</i>	DRZ	7	2x	16	SK - Drženice, vinice JZ od vesnice, 242 m n. m.	48° 16' 37.9"	18° 40' 48.0"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. pratensis</i>	GRC	8	4x	~30-32	SI - Coastal-Karst, Logatec, Grčarevec, 478 m n. m.	45° 52' 20.2"	14° 12' 48.4"	Šingliarová B., Kačmarová T., Olšavská K.
<i>C. matthioli</i>	GRM	8	2x	16	BG - údolí Metsa, blízko vesnice Grmen, 520 m n. m.	41° 35' 05.2"	23° 47' 15.9"	Šingliarová B., Kačmarová T., Olšavská K.
<i>C. majovskyi</i>	GUL	8	4x	32	HU - Szabolcz-Szatmár-Béleg, okres Vásárosnamény, okraj lesa, při břehu řeky Tisza JV od vesnice Gulács, 107 m n. m.	48° 04' 35.0"	22° 28' 45.0"	Kačmarová T.
<i>C. majovskyi</i>	GUS	8	4x	32	AT - Burgenland, Güssing, polní cesta JZ od Fischteichu, 236 m n. m.	47° 02' 43.9"	16° 18' 25.9"	Šingliarová B., Kačmarová T., Olšavská K.
<i>C. pratensis</i>	INT	8	4x	30	CH - Bern, Interlaken, Weissenau, Aarekanal, 562 m n. m.	46° 40' 19.9"	07° 49' 54.6"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. matthioli</i>	KAR	8	2x	16	AT - okres Gaming, Kartause, 387 m n. m.	48° 16' 46.5"	16° 10' 41.6"	Šingliarová B., Kačmarová T., Olšavská K.
<i>C. dentata</i>	KES	7	10x	~85	HU - Zala, Balaton, v kempu blízko města Keszthely, 113 m n. m.	46° 44' 48.4"	17° 14' 43.2"	Olšavská K.

<i>C. pratensis</i>	KOR	8	2x	16	AT - Kärnten, Koralpe, Koralpe Hütte, 1863 m n. m.	46° 47' 33.2"	14° 57' 03.2"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. dentata</i>	KRC	8	10x	84	CZ - Jižní Čechy, okres Písek, Krč - místní část Protivína, východní strana Švarcenberského rybníka, 389 m n. m.	49° 12' 15.6"	14° 14' 48.8"	Holič F.
<i>C. rivularis</i>	LBA	8	3x	24	RO- Sibiu, Fagaras, ledovcové jezero Lacul Balea, 2030 m n. m.	45° 36' 11.2"	24° 36' 56.4"	Záveská E.
<i>C. dentata</i>	LEL	7	12x	92	SK - Latorická rovina, S od vesnice Leles, blízko mostu přes řeku Latoricu, 135 m n. m.	48° 30' 06.5"	22° 03' 07.6"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. matthioli</i>	MAK	5	2x	16	SK - Laborecká vrchovina, Makovce, na východním okraji vesnice, 373 m n. m.	49° 15' 23.2"	21° 45' 38.8'	Olšavská K.
<i>C. dentata</i>	MOK	7	12x	92	SK - Latorická rovina, Ptrukša, les Mokrad', 120 m n. m.	48° 28' 24.8"	22° 07' 17.8"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. majovskyi</i>	MOK	8	4x	32	SK - Latorická rovina, Ptrukša, les Mokrad', 120 m n. m.	48° 28' 24.8"	22° 07' 17.8"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. pratensis</i>	PLA	10	4x	32	AT - Styria, Steiermark, Nízke Taury, Planneralm, 1589 m n. m.	47° 24' 23.2"	14° 12' 00.7"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. pratensis</i>	PRA	8	2x	16	CH - Schwyz, Pragelpass, 1334 m n. m.	47° 00' 48.1"	08° 52' 50.8"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. majovskyi</i>	PTR	8	4x	32	SK - Latorická rovina, Ptrukša, 98 m n. m.	48° 29' 29.9"	22° 08' 14.4"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. dentata</i>	RAD	8	12x	92	SK - Latorická rovina, Ptrukša, Rad, blízko řeky Latorici, 104 m n. m.	48° 27' 38.2"	21° 51' 28.1"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. majovskyi</i>	RAD	1	4x	32	SK - Latorická rovina, Ptrukša, Rad, blízko řeky Latorici, 104 m n. m.	48° 27' 38.2"	21° 51' 28.1"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. pratensis</i>	SEV	8	2x	16	UA - okres Dolyns'kyj, Ševčenkovo, 485 m n. m.	48° 53' 45.5"	23° 54' 45.7"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. matthioli</i>	SLH	8	2x	16-20	SK - Slánske vrchy, Slánska Huta, blízko hřbitova, 484 m n. m.	48° 35' 47.1"	21° 27' 58.5"	Šingliarová B., Olšavská K.
<i>C. dentata</i>	SOGN	8	10x	78	NO - Oslo, Sognsvann, v olšinách na JZ jezera, 200 m n. m.	59° 58' 14.1"	10° 43' 24.1"	Holič F.
<i>C. matthioli</i>	STA	4	2x	16	SK - Bukovské vrchy, Stakčín, Z od železniční stanice, 234 m n. m.	48° 59' 45.3"	22° 12' 56.6"	Olšavská K.

<i>C. dentata</i>	VAJ	8	12x	94-95	HU - Borsód-Abaúj-Zemplén, okres Sárospatak, rybník Bodrog u vesnice Vajdácská, 104 m n. m.	48° 18' 36.6"	21° 36' 11.9"	Kačmarová T.
<i>C. dentata</i>	VIS	6	10x	70	HU - Pest, okres Vacov, břeh řeky Danube, 110 m n. m.	47° 44' 18.8"	19° 05' 51.7"	Šingliarová B., Kačmarová T., Olšovská K.
<i>C. pratensis</i>	VRE	8	4x	30	SK - Levočská planina, Vyšné Repaše, JZ nad vesnicí, 905 m n. m.	49° 03' 37.1"	20° 40' 10.5'	Olšovská K.
<i>C. pratensis</i>	WIL	8	2x	16	CH - St. Gallen, Willdhaus, blízko parkoviště, 1020 m n. m.	47° 12' 01.5"	09° 20' 52.0"	Šingliarová B., Olšovská K.
<i>C. dentata</i>	ZABL	3	10x	85	CZ - Jižní Čechy, České Budejovice, J od malé vesnice Záblatíčko, 398 m n. m.	49° 07' 36.4"	14° 16' 20.0"	Holič F.
<i>C. pratensis</i>	ZABL	1	4x	32	CZ - Jižní Čechy, České Budejovice, J od malé vesnice Záblatíčko, 398 m n. m.	49° 07' 36.4"	14° 16' 20.1"	Holič F.
<i>C. dentata</i>	ZDL	8	14x	115, 117	SK - Národní přírodní rezervace Dolný les, J od vesnice Vysoká při Moravě, 151 m n. m.	48° 17' 33.6"	16° 55' 07.0"	Šingliarová B.

2.2 Metody

2.2.1 Metoda průtokové cytometrie

Průtoková cytometrie (Flow cytometry, FCM) je moderní metodou používanou v současnosti v širokém rozsahu biologických oborů. Původně byla vyvinuta pro biomedicínské účely a to zejména pro rychlé počítání a analýzu krevních buněk v 60-70. letech minulého století. Na počátku 80. let se průtoková cytometrie začala využívat i ke studiu rostlin (Doležel 1997).

Významnou prací byla práce od Galbraith & al. (1983), který použil radikálně pokrokové řešení. Připravil suspenzi intaktních jader nasekáním malého množství čerstvé rostlinné tkáně ve vhodném izolačním pufu (Doležel & Bartoš 2005). Rozsah uplatnění jejích aplikací je široký, v botanice se používá například ke stanovení velikosti genomu, určení ploidie a reprodukčních způsobů, detekci smíšených vzorků, endopolyploidie a aneuploidie aj. (Doležel & al. 2007).

Izolovaná fluorescenčně obarvená jádra jsou rozptýlena v kapalině (nejčastěji destilované vodě nebo slabém roztoku solí) a unášena rychlým prouděním kapaliny tenkou kapilárou do optické komůrky. Je zde využíváno tzv. hydrodynamické fokusace, kde kapalina je přiváděna pod větším tlakem než vlastní suspenze částic, které jsou tudíž udržovány jen v centrální části proudu. V komůrce jedno jádro po druhém prochází přes svazek paprsků excitačního světla laseru o určité vlnové délce (Suda 2005).

Emitované světlo ozářených jader je následně vedeno přes soubor filtrů a zachyceno fotodetektozem, který převede optický signál na elektrický impuls. Po zesílení signálu a převedení impulsu z analogové do digitální podoby dochází ke zpracování dat počítačem do formy histogramu (Suda 2005).

Výsledkem analýz jsou histogramy zobrazující relativní intenzitu fluorescence izolovaných jader. Z histogramů můžeme obvykle odečíst dva píky studované rostliny: první pík odpovídá G1 fázi buněčného cyklu, druhý, menší pík, představuje G2 fázi. Při endopolyploidizaci pletiv, která je u *Cardamine* častá, můžeme na histogramu vidět i další stále menší píky. Z pozice těchto píků společně s píkem interního standardu můžeme tedy určit ploidii rostliny.

Jedním z parametrů cytometrických analýz je variační koeficient (CV), který charakterizuje přesnost analýzy a je vypočítán jako podíl směrodatné odchylky a průměrné pozice píku. Je udáván v procentech a obvykle tolerován v rozmezí od 1 do 5 %. U kritických analýz (např.

analýza velikostí genomu) jsou považovány hodnoty do 3 % za přesné. U druhů s vysokým obsahem sekundárních metabolitů můžeme akceptovat analýzy s hodnotami koeficientu kolem 5 %. Toleranci je třeba také zachovat u taxonů s malým množstvím DNA [např. u *Arabidopsis thaliana* je hranice přesnosti kolem 7 % (Suda 2005)].

Kvalitu analýz dále ovlivňuje i typ fluorescenčního barviva, které se různě váže na dvoušroubovici DNA. V našem případě bylo použito barvivo DAPI (4,6-diamidin-2-fenylindol), které je excitováno v ultrafialové oblasti spektra a emituje modré záření. DAPI se selektivně váže na AT bohaté oblasti v DNA (Kapuscinsky 1995).

Velikou výhodou průtokové cytometrie je rychlé analyzování velkého množství materiálu, zanalyzováno může být i více než 100 částic za sekundu. Mezi její další výhody patří nenáročnost přípravy vzorku. Pro analýzu stačí velikost pletiva kolem 0,5 cm², což umožňuje rostlinu analyzovat několikrát a je možné studovat i vzácné a ohrožené druhy. Dále metoda nevyžaduje mitoticky aktivní buňky a je možné k analýze použít širokou škálu pletiv (Doležel & al. 2007).

K nevýhodám patří ve většině případů potřeba čerstvého materiálu. Povadlý rostlinný materiál mívá za následek horší kvalitu histogramů, což se v našem případě korunních lístků potvrdilo. Dalším negativním faktorem je vysoký obsah sekundárních metabolitů, které omezují vazbu fluorescenčního barviva na dvoušroubovici DNA, a kvůli kterému se kvalita analýz též rapidně snižuje. Tímto jsou známé především čeledi jako *Geraniaceae*, *Rosaceae* (Suda 2004).

Metodou průtokové cytometrie bylo zkoumáno celkem 95 rostlin z 11 populací. Minimální počet měření v rámci jedné populace byl 1 jedinec.

Pro stanovení ploidního stupně byla použita metoda analýzy vzorku s vnitřním standardem o známé velikosti genomu (Doležel 1997). Jeden korunní lístek byl pomocí žiletky nasekán společně se standardem v 1000 µl OTTO I pufu (protokol Doležel & al. 2007). Následně byla suspenze přefiltrována přes nylonový filtr do kyvety a obarvena 1 ml roztoku s barvičkou (DAPI). K analýze byl použit průtokový cytometr CyFlow ML (Partec, Germany).

Pro měření byly použity dva různé standardy. Prvním standardem byla *Bellis perennis* L. s velikostí genomu 2C = 3,38 pg (Schönswetter & al. 2007). Druhým standardem byla *Solanum lycopersicum* L. o velikosti genomu 2C = 1,96 pg (Doležel & al. 1992).

Výstupem měření pomocí průtokové cytometrie byl graf. V programu FloMax (Partec, Germany) byly z grafu odečteny hodnoty relativní intenzity fluorescence jader (mean) měřené rostliny a jader standardu, které se zobrazily jako dva píky s různou vzdáleností od sebe. Pro každou rostlinu byl vypočítán index definovaný jako podíl těchto dvou píků. Relativní velikost genomu studovaných rostlin byla spočítána z poměru píků standardu a studovaného vzorku dle vzorce:

$$\text{Relativní velikost genomu} = (\text{pozice píku vzorku} / \text{pozice píku standardu})$$

Jelikož nebyly dodrženy přísné podmínky pro stanovování přesné velikosti genomu, lze tyto hodnoty velikosti genomu brát jen orientačně.

2.2.2 Počty chromozomů

Pro potvrzení ploidie byla použita metoda počítání chromozomů z roztlakových preparátů kořenových špiček barvených Giemsovým barvivem. Vzhledem k nízké variabilitě velikosti genomu v rámci jednotlivých populací byl ke stanovení počtu chromozomů použitý z každé populace jeden vzorek s dobře vyvinutými kořenovými špičkami.

Roztlakový preparát byl připraven tak, že nejprve byly rostliny vyjmuty z květináče a odstříhnuto přibližně 1 cm kořínku s viditelnou kořenovou špičkou. Po propláchnutí v destilované vodě byly předpůsobeny v 0,002 M roztoku 8-hydroxychinolinu, ve kterém byly přibližně 16–18 hodin při teplotě 5 °C. Poté byly kořínky zafixovány pomocí Farmerovy fixáže (96% etanol a ledová kyselina octová v poměru 3 : 1) po dobu 24 hodin. Takto připravené kořenové špičky byly propláchnuty v destilované vodě, macerovány v 1N HCl při teplotě 60 °C po dobu 8 minut a poté promývány v destilované vodě po dobu nejméně 10 minut. Následně byly kořenové špičky roztláčené pod celofánovým čtverečkem. Nejprve jemně přitisknuty gumovou zátkou a následně rozprostřené do jedné vrstvy pomocí zkumavky (Murín 1960). Poté byl preparát obarven pomocí 10 % roztoku Giemsova barviva v Sørensenově fosfátovém pufru. Po obarvení byl preparát opláchnut destilovanou vodou, usušen a pozorován pomocí mikroskopu v imerzním oleji.

2.2.3 Mikrosatelity

Mikrosatelitové márkry, které byly použité, byly odvozeny 454 sekvenováním DNA dvou jedinců *Cardamine amara* a *C. rivularis* z údolí Unerboden ve švýcarských Alpách (Zozomová-Lihová & al. 2014). V této studii bylo celkem testováno 45 párů primerů. Z každé

populace (Tabulka 2) byl testován jeden jedinec v použitelnosti primerových párů, amplifikovatelnosti určitého mikrosatelitového lokusu, jestli počet alel odpovídá úrovni dané ploidie nebo jestli je alelický polymorfismus mikrosatelitového lokusu dostatečný.

Tabulka 2: Původních 8 vzorků z populací, které byly použité na optimalizaci sady primerů

Populace	Taxon	Chromozomové číslo	Země	Lokalita
47DEM	<i>C. pratensis</i>	6x-4 = 44	SK	Nízke Tatry, Demänová, J od vesnice, při cestě do údolí Demänová dolina
72PLA-A	<i>C. pratensis</i>	4x = 32	AT	Steiermark, Nedere Tauren, Planneralm
19DE3	<i>C. pratensis</i>	4x = 32	BE	Prov. Liege, Soumagne, Cerexhe-Heuseux
90PRA	<i>C. pratensis</i>	4x = 32	CH	Schwyz, Pragelpass
104HOB	<i>C. rivularis</i>	2x = 16	UA	Rajon Nadvirjans'kyj, Hoverla, modře značená cesta
C690	<i>C. "rivularis"</i>	2x = 16	AU	Carinthia, Wolfsberg, z Weinebene do Grillitsch Hütte
111HOS	<i>C. ucranica</i>	2x = 16	UA	Rajon Dolyns'kyj, Hošiv
28DRZ	<i>C. matthioli</i>	2x = 16	SK	Drženice, vinice JZ od vesnice, Šerpacamp

2.2.3.1 Izolace DNA z materiálu *Cardamine*

DNA byla izolována z rostlinného materiálu, který byl sušený v silikagelu z 8 jedinců na každou populaci. Byl použit DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) nebo (ve většině případů) DNeasy 96 Plant Kit (Qiagen), kde bylo postupováno dle návodu od výrobce. Veškerá izolovaná DNA byla uložena v mrazícím boxu při teplotě -20°C v Centru biologie rostlin a biodiverzity Slovenské akademie věd v Bratislavě.

Před začátkem práce byly připraveny AP1 a AP3/E pufry. Pokud v nich byly viditelné sraženiny (způsobené skladováním) musely být rozpuštěny zahřátím na cca 60°C. Následně byl přidán 96–100 % ethanol do AP3/E pufru, tak aby byl získán pracovní roztok. Následně se připravily zkumavky (mikrozkumavky a tzv. kolonky) nadepsaly se a vložily se do nich skleněné kuličky (-> na rozdrčení rostlinného materiálu tzv. homogenizace). Do připravených mikrozkumavek s kuličkami byla přidána navážená tkáň (do 20 µg). Následně byly zkumavky vloženy do třepačky TissueLyser II (Qiagen) a puštěné na 1 min. při frekvenci 30 Hz. Po uplynutí doby byly vzorky otočeny a přístroj byl puštěn znovu. Z tkáně vznikl homogenní prášek. Do každé zkumavky byl přidán 400 µl AP1 pufru (Lysis pufr) a 4 µl RNAsy. Dál byla směs důkladně protřepána. RNAsa rozpouští RNA a AP1 pufr sráží vše ostatní, co není potřeba (např.: bílkoviny, rozpouští buněčné stěny). Po protřepání byla směs inkubována 10 minut při 65°C. Během inkubace byly zkumavky 2x – 3x otočeny (aby se vše řádně rozložilo). Dále bylo ke směsi přidáno 130 µl AP2 pufru a inkubováno dalších 5 minut v

mrazáku. Tento krok sráží detergent, proteiny a polysacharidy. Následně byla směs centrifugována 5 minut při 14000 rpm = 20000 rcf (Eppendorf Centrifuge 5427R). Byl získán supernatant, který byl přepipetován do QIA shredder Mini Spin kolonky, kde byly odfiltrovány zbylé nečistoty v centrifuze při 14000 rpm. Supernatant byl přefiltrován do nové mikrozkuhavky a k němu bylo přidáno 600 µl AP3/E pufru. Vysrážela se nám DNA v supernatantu. Následně bylo DNA zachyceno na filtru kolonky, kdy bylo pipetováno přibližně 500 µl supernatantu do kolonky a zcentrifugován 2x 1 minutu při 6000 rcf. Dále byly kolonky vylévány. Do zcentrifugované kolonky bylo přidáno 500 µl AW2 pufru a znovu byly vloženy do centrifugy na 2 minuty při 20000 rcf. Tento krok byl 2x opakován, aby byla DNA promyta od nečistot. Z kolonky s promytou DNA byla DNA následně přenesena do mikrozkuhovek a na filtr bylo přidáno 60 µl Elution pufru, který rozpustil DNA do roztoku. Mikrozkuhavky s kolonkami byly centrifugovány 1 minutu při 6000 rcf. Nyní byl roztok DNA ve zkumavce.

2.2.3.2 Měření koncentrace DNA

Koncentrace DNA v získaných vzorcích byla měřena pomocí přístroje Nanodrop 2000 (Thermo Scientific). Na zakončení svazku optických vláken bylo nanášeno nejdříve 1,7 µl AE pufru, který byl spektrofotometricky proměřen a použili jsme jej jako blank. U vzorků DNA jsme nanášeli 1,7 µl. Z naměřených hodnot jsme zaznamenali koncentraci DNA v ng/ µl a poměr A260/A280. U čistých vzorků DNA (bez dalších příměsí) by hodnota A260/A280 měla být mezi 1,7–2.

Tabulka 3: Příklad měření koncentrace DNA

	Sample ID	ng/ul	A260/A280
<i>Cardamine dentata</i>	LEL_1	114	1,71
	LEL_2	125,2	1,74
	LEL_3	129,3	1,73

2.2.3.3 Ověření kvality DNA

Kvalita DNA byla ověřena také pomocí elektroforézy. K 3 µl vzorku bylo přidáno 1,5 µl barvy loading dye. Obarvené vzorky byly nanášeny na 1% agarosový gel v 1x TAE pufru (0,32 g agarosy, 40 ml 1x TAE pufru a kapka ethidium bromidu). Použili jsme 3 µl žebříčku Gene Ruler 100 bp (Thermo Scientific).

2.2.3.4 Testování mikrosatelitů cross-amplification

Použitelnost 45 párů primerů byla ověřena v počátečním testování mikrosatelitových lokusů různých oktoploidních jedinců z osmi široce rozšířených populací *C. pratensis*, *C. rivularis*, *C. pratensis* morfotyp „*ucranica*“ a *C. matthioli*. 24 markerů bylo vyloučeno z testování sad primerů, protože jejich PCR produkty nebyly pozorovány u většiny testovaných vzorků, ani když byla amplifikace PCR opakována. Mohlo to být způsobeno výskytem nulových alel nebo díky odchylkám jednoho či více nukleotidů v jejich genomu, které bránily navázání primerů do sekvence DNA. 21 polymorfních mikrosatelitových lokusů (2 dinukleotidy, 18 trinukleotidů a 1 tetranukleotid, Tabulka 4) bylo vyhodnoceno jako použitelných pro amplifikaci v celém souboru.

Každý z mikrosatelitových lokusů byl amplifikovaný polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) pomocí „primer tailing approach“ nebo „tailed primer method“ (Schuelke 2000), ve které M13R sekvence (= tail) je připojena k 5' -konci jedné ze sekvenčně specifických forward nebo reverse primerů. Označování PCR fragmentů fluorescenčním barvivem bylo provedeno třetím univerzálním fluorescenčním M13R primerem, který se komplementárně váže na M13R tail sekvenčně specifického primeru. Amplifikace pomocí PCR byla provedena v celkovém objemu 25 μ l, který se skládal z 15–25 ng templátové DNA, 0,2 μ M sekvenčně specifického primeru označeného M13R, 0,08 μ M neoznačeného sekvenčně nespecifického primeru, 0,08 μ M univerzálního, 6-FAM fluorescenčně označeného M13R primeru (M13R tail: 5'-GGA AAC AGCTAT GAC CAT-3'), 1x PCR pufr s KCl (Fermentas), který obsahoval 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP a 0,5 U DreamTaq DNA polymerázy (Fermentas). Reakční podmínky byly: 95 °C za 3 min, 25x 95°C po 30 s a 72°C po 2 min, následovalo 10x 95°C po 30 s, 46°C po 30 s a 72°C po 2 min; finální prodlužující krok 72°C po dobu 20 min. PCR byla provedena v termocykleru (Eppendorf Mastercycler pro S) a produkty amplifikace byly ověřeny na 1% agarozovém gelu, kde byla přidána kapka GelRed. Vzorky s produkty PCR byly dány na fragmentační analýzu do BITCET konzorcia na Univerzitě Komenského v Bratislavě, kde byl použit ABI 3100 Avant kapilární sekvenátor.

Tabulka 4: Finální soubor 21 mikrosatelitových markerů použitelných v analýzách

Lokus	Opakující se motiv	Sekvence primerů (5' - 3')		Rozsah velikosti alel (bp)
Cama3	(AAT) ₇	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	209-310
		R:	TGTGCTTACGCTATTACAAGTCG	

Cama33	(AAG) ₈	F:	CCGAACCTGAGGAAGTAGGG	150-180
		R:	GGAAACAGCTATGACCAT	
Card4	(CTT) ₁₈	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	146-214
		R:	TCATACCAACGTCAAACGGAAG	
Card5	(CTT) ₁₄	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	235-296
		R:	TGATGAAGCTTATTTCGGTTTCTTG	
Card7	(CTT) ₁₂	F:	ACCTCTTTCGAATCCGGTG	225-300
		R:	GGAAACAGCTATGACCAT	
Card8	(CTT) ₁₂	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	238-295
		R:	ACAGCAAATGGAACAAACCAG	
Card12	(AT) ₁₂	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	175-209
		R:	CTTGATCCGCTTGAGAGGC	
Card15	(GTT) ₁₃	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	135-186
		R:	TGGTACCGGAAGAACTGG	
Card17	(CTT) ₁₅	F:	AGCTTTGCATCCAGCAACC	152-253
		R:	GGAAACAGCTATGACCAT	
Card18	(AC) ₁₂	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	290-358
		R:	TGCGAGAAGAAGGGTCCAC	
Card19	(GAT) ₁₆	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	356-422
		R:	AGATGCTTATATTCCGATGGCG	
Card29	(CTTT) ₁₃	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	265-339
		R:	GATCATCTTCCCGCCTCAAG	
Criv5	(ATC) ₇	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	334-397
		R:	CAAATCTCGTCTCAGTGTTGG	
Criv8	(AAG) ₈	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	250-309
		R:	TCGTGAGTTACCGGAGAAGC	
Criv12	(ATC) ₉	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	172-211
		R:	AATCTCAACGGGACACTGG	
Criv25	(AAG) ₇	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	378-442
		R:	CTCGCCGTTGCACGAAC	
Criv37	(GAT) ₁₁	F:	AACAACTGGAGGGAATTACTG	186-225
		R:	GGAAACAGCTATGACCAT	
Criv39	(GGT) ₇	F:	ACGCTCTGGTTGATTTCTGC	249-284
		R:	GGAAACAGCTATGACCAT	
Criv43	(GTT) ₇	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	196-262
		R:	CAGCTCGAGAAGGCCAAAG	
Criv44	(ACG) ₈	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	304-366
		R:	TGGTGGAGGAACTGACCAAC	
Criv50	(AAC) ₇	F:	GGAAACAGCTATGACCAT	253-317
		R:	ACACAAGAAACCGCAAGATCC	

Pro zjednodušení laboratorní práce a snížení časové náročnosti byly analýzy provedeny prostřednictvím koamplifikace více mikrosatelitů v jediné PCR (tzv. multiplex PCR). V jedné reakci byly lokusy s nepřekrývajícím se rozsahem alel označeny stejnou fluorescenční barvou, kdežto ty překrývající se byly označeny různě. Primerové páry s podobnou teplotou anealingu

a vyhovující délkou produktu byly kombinovány v pěti multiplex PCR reakcích s dvěma až šesti lokusy na reakci. Přehled finálních kombinací multiplexů v Tabulce 5.

Tabulka 5: Přehled finální kombinace multiplexů, včetně primerových párů, rozsahem velikostí konkrétního mikrosatelitového lokusu, fluorescenční barvou a finální koncentrací (μM) primerů.

Multiplex 1

Lokus	Rozsah velikostí lokusů (bp)	Barva	Koncentrace (μM)
Cama33	150-180	NED	0,3
Criv50	253-317	NED	0,4
Criv12	172-211	6-FAM	0,05
Criv44	304-366	6-FAM	0,2
Card19	356-422	VIC	0,2
Criv43	196-262	PET	0,2

Multiplex 2

Lokus	Rozsah velikostí lokusů (bp)	Barva	Koncentrace (μM)
Card15	135-186	NED	0,2
Card29	265-339	NED	0,1
Card4	146-214	6-FAM	0,2
Criv25	378-442	VIC	0,2

Multiplex 3

Lokus	Rozsah velikostí lokusů (bp)	Barva	Koncentrace (μM)
Card12	175-209	NED	0,2
Card18	290-358	NED	0,4
Criv37	186-225	6-FAM	0,05
Criv5	334-397	6-FAM	0,2
Card8	238-295	PET	0,3

Multiplex4

Lokus	Rozsah velikostí lokusů (bp)	Barva	Koncentrace (μM)
Cama3	209-310	NED	0,2
Card7	225-300	6-FAM	0,05
Card5	235-296	VIC	0,4
Criv8	250-309	PET	0,3

Multiplex 5

Lokus	Rozsah velikostí lokusů (bp)	Barva	Koncentrace (μM)
Card17	152-253	VIC	0,3
Criv39	249-284	PET	0,3
Card18	290-358	NED	0,4

2.2.4 Statistické vyhodnocení mikrosatelitových dat

Data ze sekvenátoru přišla jako soubory s koncovkou *.fsa, které se daly prohlížet a analyzovat v programu GeneMarker (Soft Genetics). Po načtení dat jednotlivých multiplexů bylo potřeba zadat templát projektu (template of the project) ABI, standard (Size Standard) 500 LIZ, jako barvu standardu (Standard Color) oranžovou (orange) a jako typ analýzy (Analysis Type) fragmentační analýzu rostlinného materiálu (Fragment Plant). Další nastavení bylo ponecháno ve výchozím stavu. Data se zobrazila jako různě barevné píky, které představují namnožené mikrosatelitové fragmenty DNA. V prvním multiplexu se zobrazily žluté (primer Cama33, Criv50), modré (primer Criv12, Criv44), zelené (primer Card19) a červené (primer Criv43) píky. Ve druhém multiplexu se zobrazily žluté (primer Card15, Card29), modré (primer Card4) a zelené (primer Criv25) píky. Ve třetím multiplexu se zobrazily žluté (primer card12, Card18), modré (primer Criv37, Criv5) a červené (primer Card8) píky. Ve čtvrtém multiplexu se zobrazily žluté (primer Cama3), modré (primer Card7), zelené (primer Card5) a červené (primer Criv8) píky. V pátém multiplexu se zobrazily zelené (primer card17), červené (primer Criv39) a žluté (primer Card18) píky. Následně byly píky alel oskórovány a zaznamenány do tabulky. Výstupem z GeneMarkeru byla binární (0/1) matice ve formátu *.xlsx (MS Excel) pro jednotlivé multiplexy, které byly následně sloučené dohromady (tzv. základní matice) kvůli analýzám v jednotlivých programech.

2.2.4.1 Analýza privátních alel

Tato metoda byla použita na základní matici v programu MS Excel, kde byl zjišťován počet alel příslušný pouze dané skupině. Nejprve byla základní matice rozdělena na jednotlivé skupiny (v našem případě na jednotlivé druhy) a následně pomocí podmíněného formátování a vzorců byly zjištěny požadované hodnoty, které byly zapsány do tabulky.

2.2.4.2 Program PAST 3.0

Jelikož program pracuje na bázi excelové tabulky, byla základní matice pouze překopírována a chybějící data (missing data) označena „?“. Následně byli, pro větší přehlednost, jednotliví jedinci označeni symbolem a barvou, ke kterému druhu patří. Pomocí programu PAST 3.0 (Hammer & al. 2001) byla provedena analýza hlavních koordinát (PCoA).

2.2.4.3 Program FAMD 1. 31

Do programu FAMD (Fingerprinting Analysis with Missing Data, Schlüter & Harris 2006) nemusela být základní matice nijak zvlášť formátována, chybějící data (missing data) byla označena „?“ a následně byla zkopírována do textového souboru s příponou *.txt. Pomocí programu FAMD 1. 31 byl vytvořen nexus formát pro Neighbour Joining Tree a pomocí metody bootstrap s 5000 opakováními byla určena statistická podpora jednotlivých větví Neighbour Joining Tree (viz 2.1). Výsledky byly následně namapovány na NJ Tree a vizualizovali ho pomocí programu (Obrázek 15).

2.2.4.4 Skript AFLPdat v prostředí programu R

Skript AFLPdat (Ehrich 2006) zahrnuje soubor funkcí, s nimiž lze pracovat v prostředí programu R (R Development Core Team 2017). Vstupními daty pro následující analýzy byl textový soubor s příponou *.txt. Tabulka zahrnující oskórované lokusy a jejich rozdělení do jednotlivých populací. Pomocí programu AFLPdat byla provedena analýza Počet genotypů v populaci - genotypová diverzita.

2.2.4.5 Program STRUCTURE

Program STRUCTURE (Pritchard & al. 2000) slouží k rozdělování studovaných genotypů do shluků, které jsou podle molekulárních dat nejpravděpodobnější na základě opakovaných běhů programu. Ideální model je vyhledáván s použitím Markovových řetězců, které postupně konvergují k ideálnímu řešení (je však třeba stanovit počet kroků předcházejících stabilní fázi – tzv. burn-in). Zásadní otázkou je stanovení optimálního K, tedy počtu (smysluplných) shluků – model s vyšším K má často i větší pravděpodobnost (likelihood), ovšem již nemusí nutně nést mnoho informace (extrémem je K rovnající se počtu jedinců). Proto je třeba zvolit takový počet shluků, kdy při jeho zvýšení o jeden již nedochází k významnému zvýšení „likelihood“. Metoda, jakou můžeme tento bod odhalit, je tzv. deltaK (Evanno & al. 2005).

Protože je výpočet ve STRUCTURE velmi náročný, byl program spuštěn na superpočítači instalovaném ve Výpočetním středisku Slovenské akademie věd, kde je program STRUCTURE nainstalovaný. Pro výpočty byly vytvořeny v poznámkovém bloku dva vstupní soubory – soubor s daty a soubor s parametry analýzy (mainparams). Jelikož bylo pracováno s dominantními daty, byl pro analýzu použit „recessive allele model with independent allele frequencies“, který předpokládá, že jednotlivé lokusy nejsou korelované (nejsou ve vazbě nebo jen ve slabé). Tento model tak zlepšuje rozdělení blízce příbuzných jedinců do shluků

(skupin). Počet generací burn-in řetězce byl nastaven na 100 000 kroků, počet generací běhu na 1 000 000 kroků. Dále byly v sekci parametrů nastaveny parametry analýzy: počáteční $K = 1$ (K value start), zvyšování K po 1 (K value steps), maximální $K = 10$ (K value end) a 10 opakování pro každé K (Number of replicates). Další parametry byly ponechány stejné jako výchozí. Po ukončení analýzy byly ze superpočítače staženy výstupní soubory, které byly zpracovány pomocí skriptů Structure-sum (Ehrich & al. 2007) v prostředí R (R Development Core Team 2008). Jelikož bylo potřeba analyzovat populace *C. dentata* a celý data set zvlášť, byly spuštěny dva výpočty ve STRUCTURE.

2.2.4.5.1 Skript Structure-sum v prostředí R

Pomocí skriptu byla příkazem Structure.table spočítána pravděpodobnost modelu [LnP(D)] ve vztahu ke vzrůstajícímu K , příkaz Structure.simil vypočítal podobnost mezi jednotlivými běhy algoritmu pro dané K (Nordborg & al. 2005) a příkaz Structure.deltaK pro určení optimálního počtu klastrů (skupin).

2.2.4.6 Program Distruct

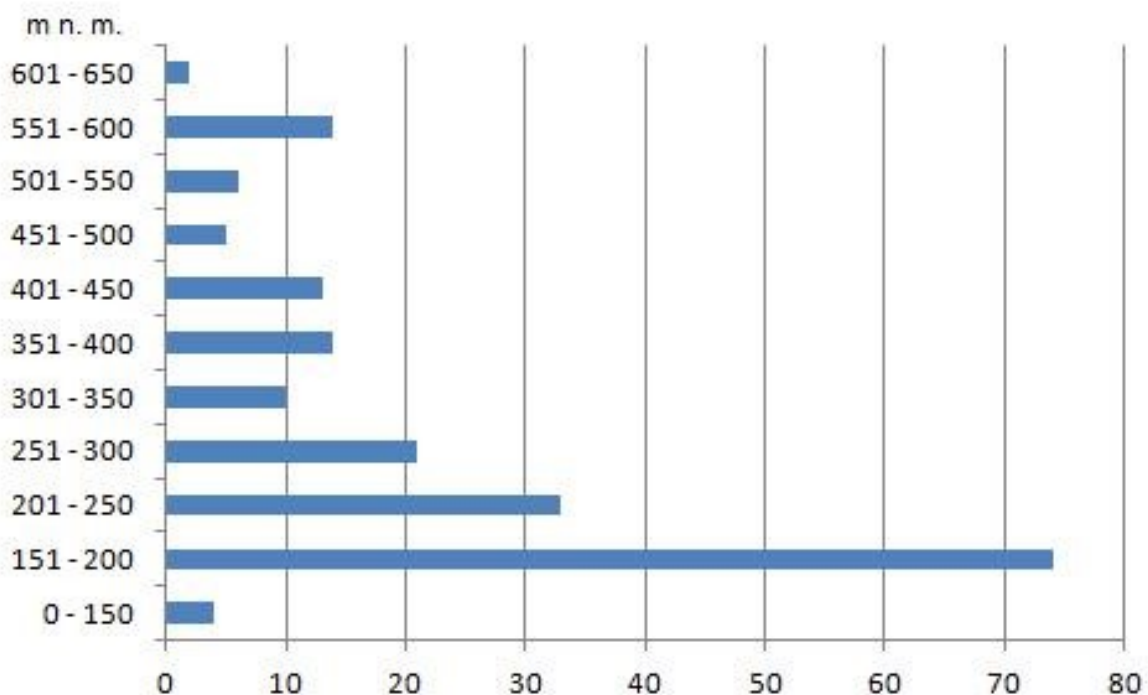
Z výsledného souboru programu STRUCTURE (outputfile) pro dané K bylo vytvořeno 5 vstupních souborů, které program Distruct (Rosenberg 2004) použil k vytvoření souboru ve formátu postscript (*.ps). Tento soubor byl pomocí programu PDF creator (geek Software GmbH 2015) převeden do formátu pdf, čímž byl vytvořen sloupcový diagram znázorňující nejlepší rozdělení jedinců do skupin podle genetické podobnosti z programu STRUCTURE.

3.0 Dosažené výsledky

3. 1. Rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR

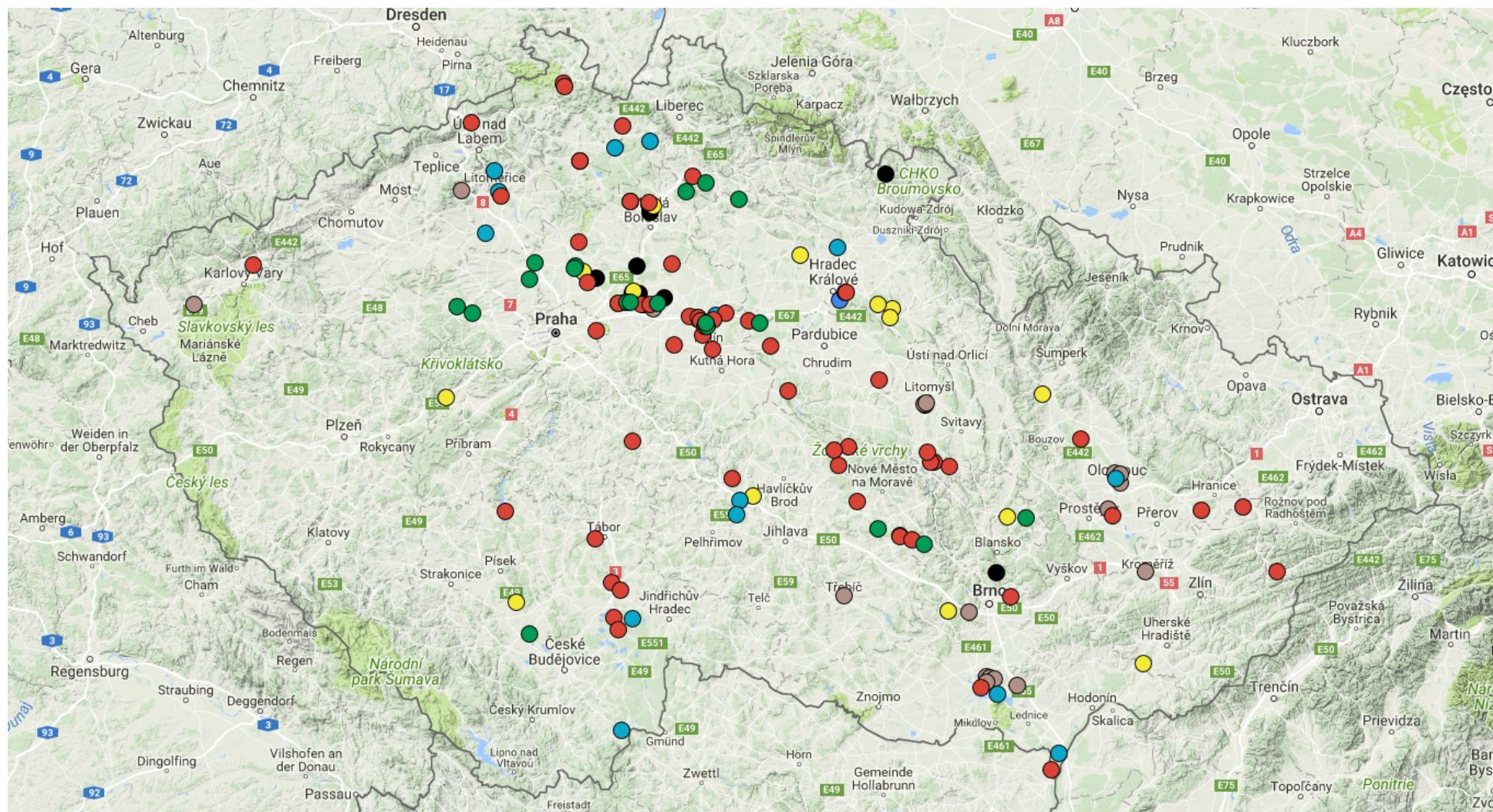
Mapy rozšíření *Cardamine dentata* byly připraveny s využitím revizí herbářových položek z herbářů BRNM, BRNU, CB, CELM, LIM, LIT, OLM, PR, PRC, ROZ a vlastních nálezů. Mapy rozšíření a seznamy lokalit jsou rozděleny podle data nálezu sběru udávaného na schedě herbářové položky. První zdokumentovaný nález pochází z území Čech (F. Kvapík, u strouhy sev. od můstku, Lysá nad Labem, 1836, OLM). Jednotlivé mapy jsou k nalezení v kapitole přílohy, stejně tak seznamy lokalit.

3.1.1 Výskyt *Cardamine dentata* Schult. podle nadmořské výšky na území České republiky



Obrázek 4: Rozdělení výskytu *C. dentata* podle nadmořské výšky

Z přiloženého grafu je patrné, že *Cardamine dentata* se v České republice vyskytuje v rozmezí nadmořských výšek od 150 až 650 metrů (maximum je ca 620 m n. m., Zalíbené – roztroušeně v příkopě). Většina lokalit se nachází v rozmezí 150–350 m n. m., což můžeme považovat za optimum výskytu.

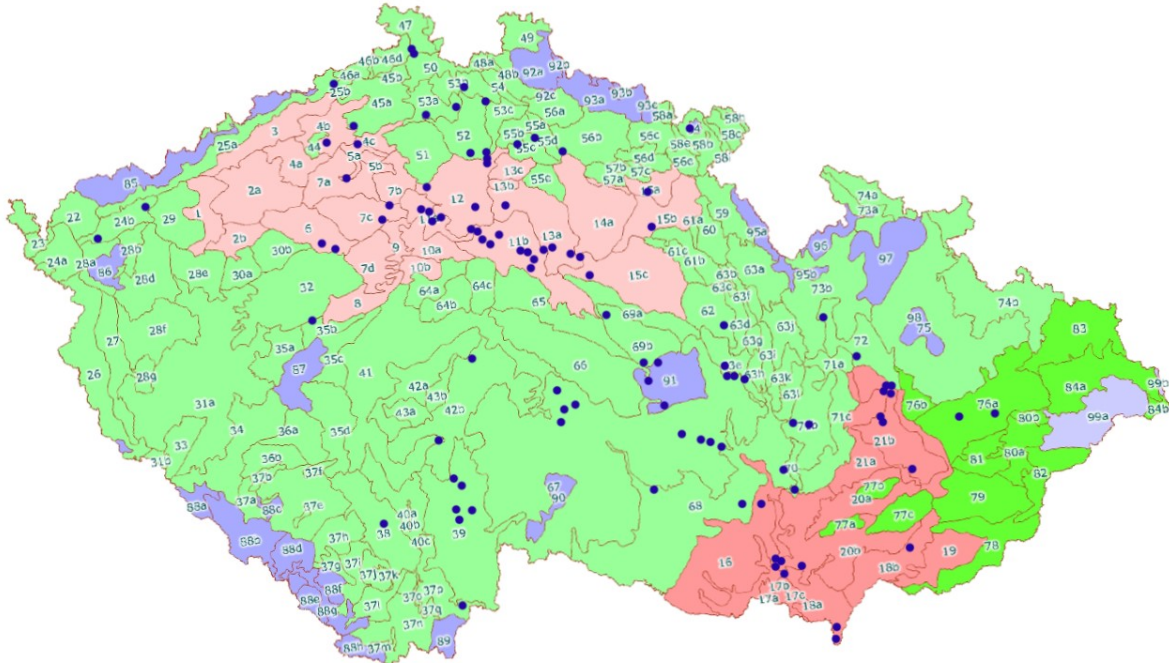


● 1836 - 1900 ● 1901 - 1925 ● 1926 - 1950 ● 1951 - 1975 ● 1976 - 2000 ● 2001 - 2016

Obrázek 5: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* v ČR v letech 1836 – 2016

3. 1. 2 Revidované lokality rozdělené dle fytogeografie

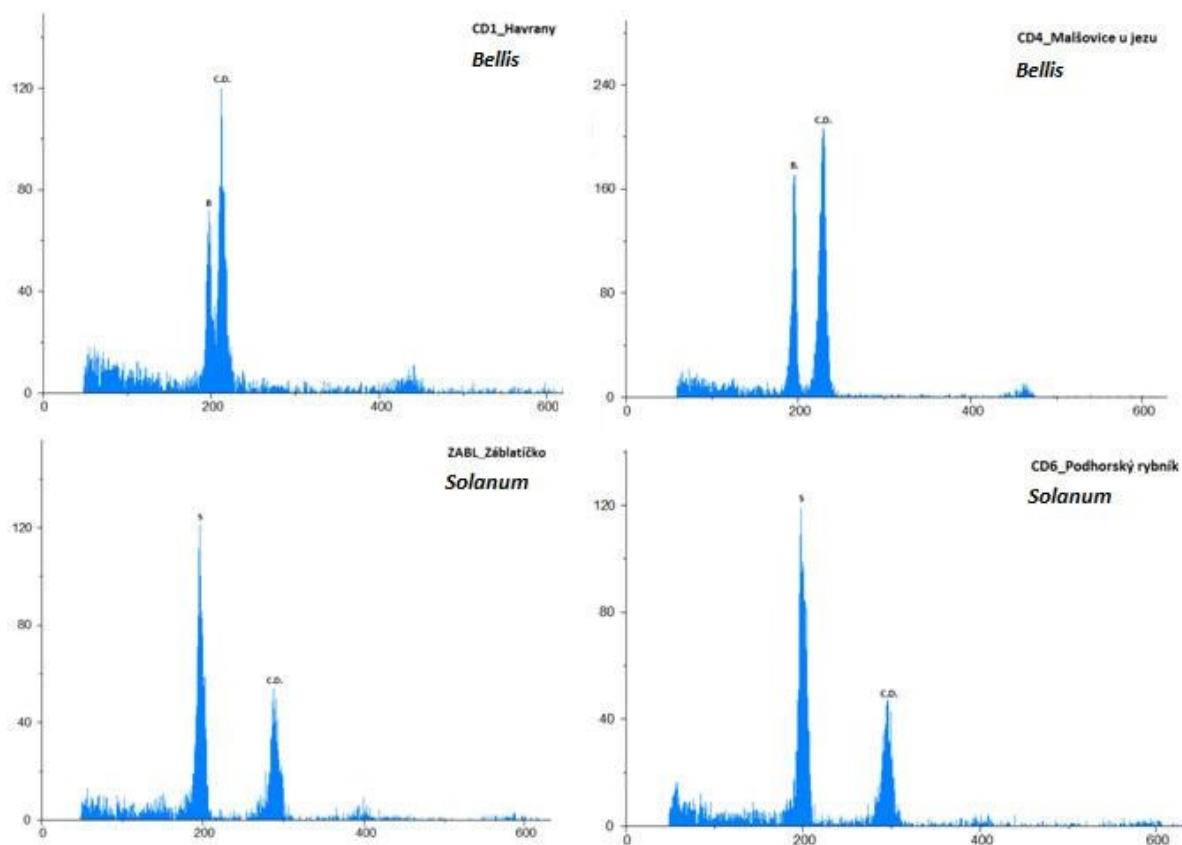
Cardamine dentata je doložena z 50 fytogeografických okresů. Lokality rozdělené do fytogeografických oblastí doložené herbářovými položkami jsou v kapitole Přílohy.



Obrázek 6: (<https://is.muni.cz>) Lokality *Cardamine dentata* vložené do fytogeografické mapy

3.2 Výsledky průtokové cytometrie

Celkově byla zjišťována relativní velikost genomu u 95 jedinců *C. dentata* z území České republiky. Na základě průtokové cytometrie a počítání chromozomů byly všechny rostliny s výjimkou jedné vyhodnoceny jako dekaploidní ($2n = 80$). Mezi populacemi, ale ani v rámci populací, nebyly naměřeny nikterak rozdílné hodnoty relativní velikosti genomů. Počty měřených rostlin v jednotlivých populacích a relativní velikosti genomů zjištěné pro jednotlivé populace jsou uvedeny v Tabulce 19, která je umístěna v kapitole přílohy a ukázky grafických výstupů z průtokového cytometru jsou na Obrázku 7.



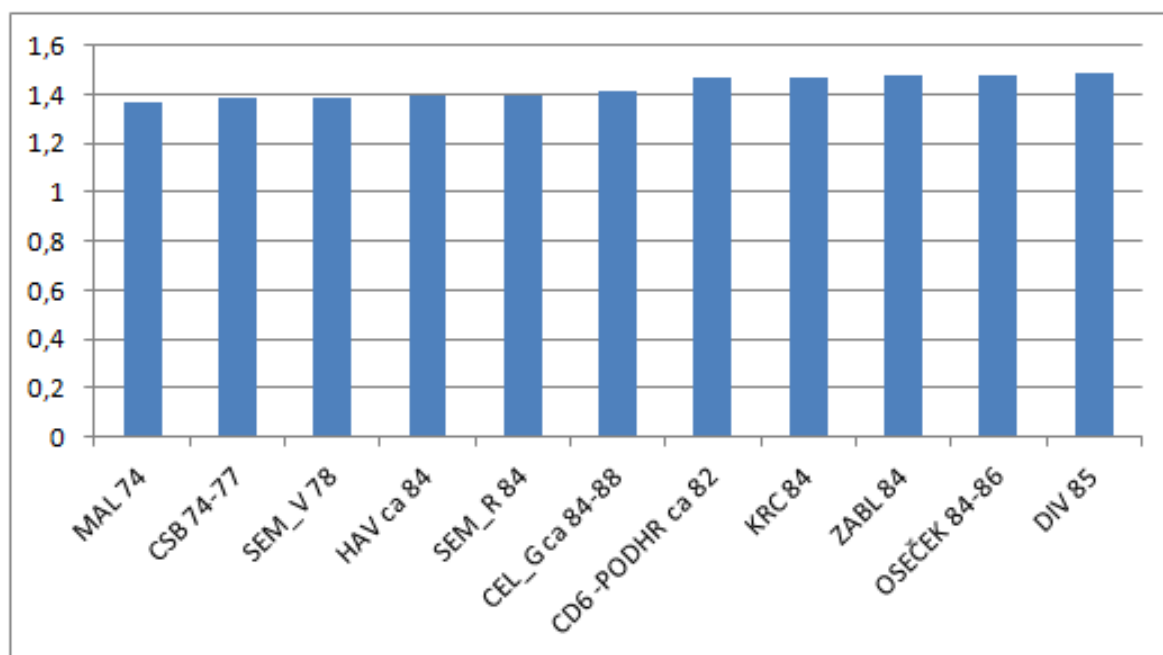
Obrázek 7: Ukázky grafických výstupů z průtokového cytometru. Na vodorovné ose je vyjádřena relativní intenzita fluorescence částic, svislá osa vyjadřuje počet částic s danou intenzitou fluorescence. Označené píky odpovídají G0/G1 fázi standardu (B = *Bellis*, S = *Solanum*) a analyzovaných rostlin (C. D.). V pravém horním rohu je uveden název lokality.

3.3 Výsledky počítání chromozomů

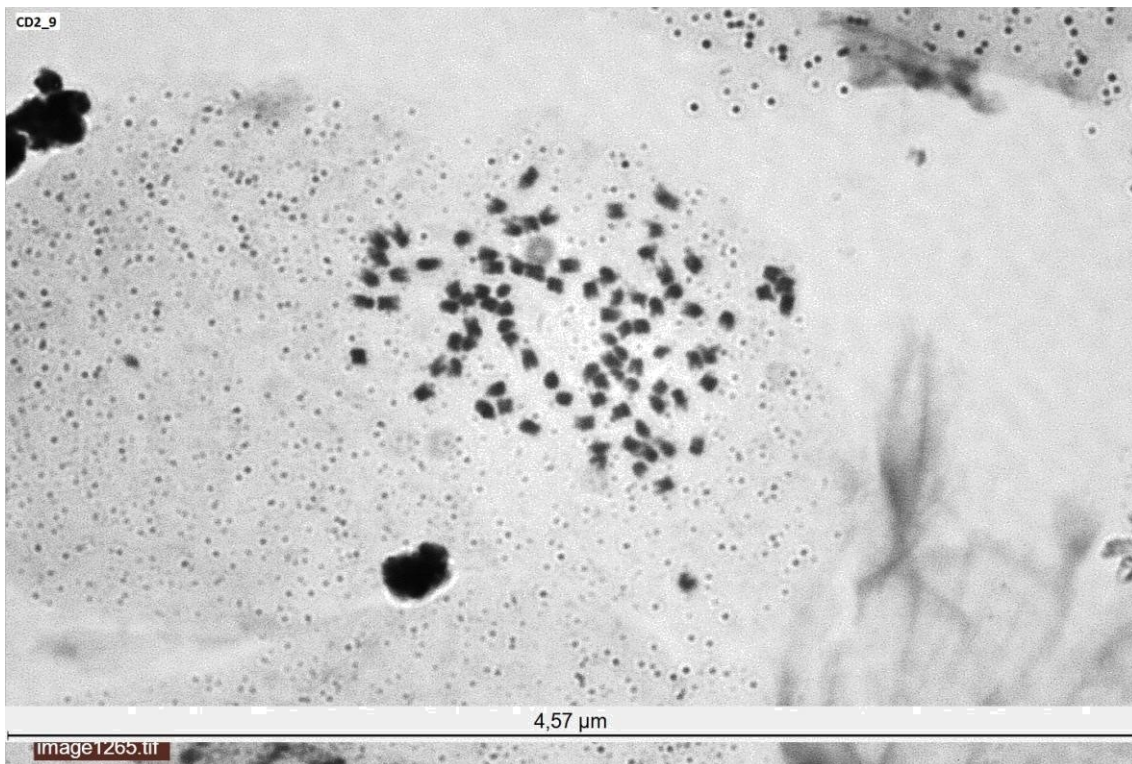
K určení počtu chromozomů bylo použito 17 vzorků z území České republiky CD1_3, CD2_9, CD3_6, CD4_1, CD5_4, CD6_1, OSEČEK_1,3, CSB_4, 6, 8, 9, DIV_1,2, KRC_6 a ZABL_1, 3. U všech byl pomocí roztakových preparátů určen počet chromozomů v rozmezí 74 – 88, což odpovídá přibližně dekaploidní úrovni. Jen u jedince CD5_4 bylo napočítáno přibližně 88 chromozomů (viz. Tabulka 6), což odpovídá undekaploidní úrovni (základní chromozomové číslo je $x = 8$).

Tabulka 6: Tabulka jedinců analyzovaných na počty chromozomů.

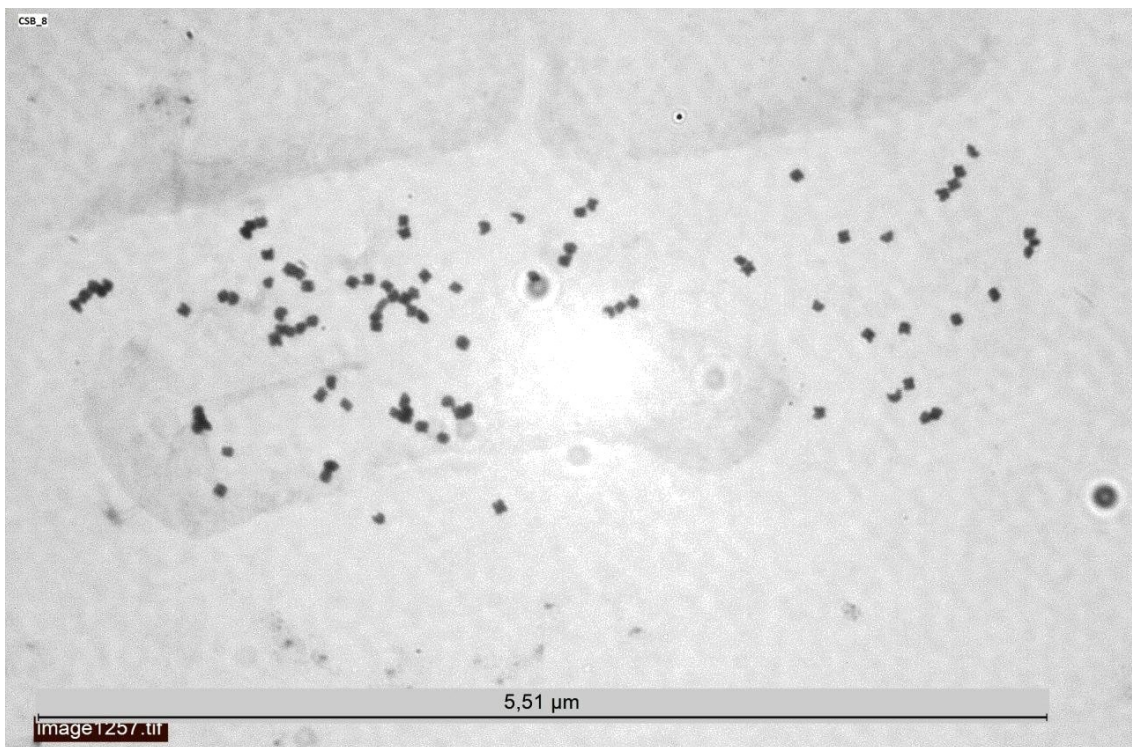
Populace	Měření jedinci	Počet chromozomů	Ploidie
CD_1 - Libický luh Havrany	3	ca 84	10x
CD_2 - Semice - tůň - rákosiny	9	84	10x
CD_3 - Semice - tůň - u výpustě	6	ca 78	10x
CD_4 - Malšovice u jezu	1	74	10x
CD_5 - Čelákovice - Grádo	4	ca 84- 88	10-11 x
CD_6 - Podhorský rybník	15	ca 82	10x
Oseček - slepé rameno Labe	1,3	84, ca 86	10x
České Budějovice - výstaviště	4,6,8,9	ca 77, 74, 77, 76	10x
Dívčice - u rybníka Černá	1,2	85, 85	10x
Krč - u Švarcenberského rybníka	6	84	10x
Záblatíčko - na břehu vodní nádrže	1,3	ca 85, 85	10x



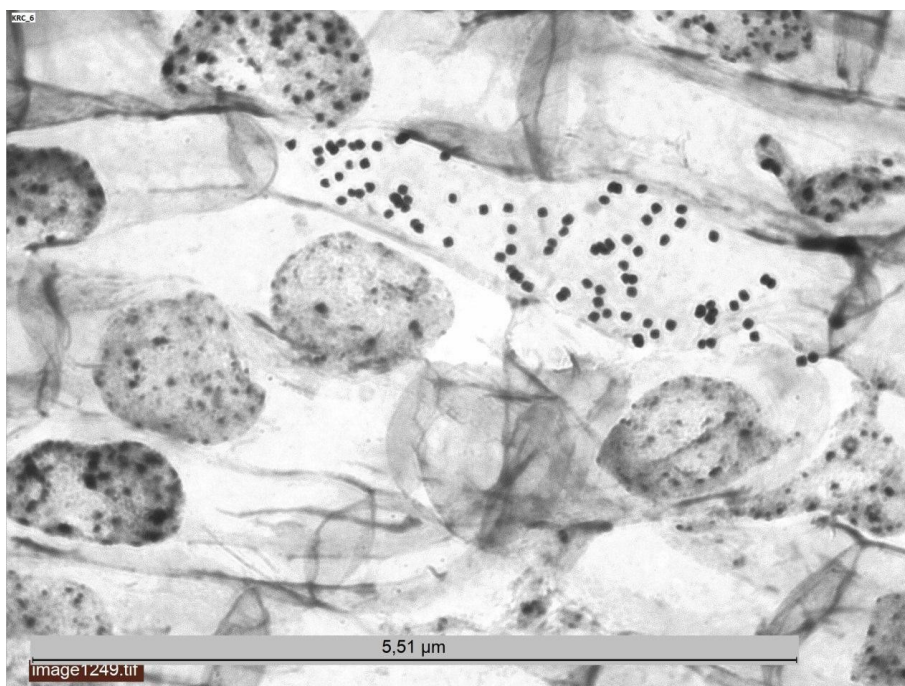
Obrázek 8: Graf, který zobrazuje průměrný relativní obsah DNA v populacích oproti počtu chromozomů ve vzestupném pořadí. Z grafu můžeme vidět, že populace, které mají nejmenší průměrný obsah DNA, mají i nejmenší počet chromozomů. Na ose x jsou zaznamenány populace a počet chromozomů, na ose y jsou uvedeny hodnoty relativní velikosti genomu.



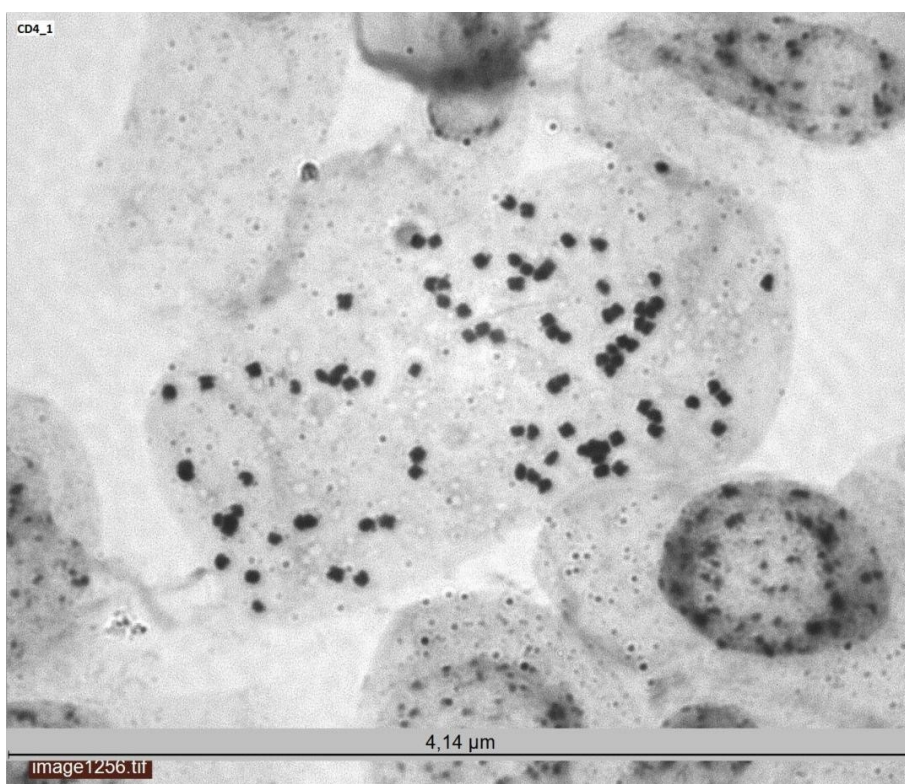
Obrázek 9: Fotografie roztlakového preparátů kořenové špičky *C. dentata*. Jedinec CD2_9, Semice – tůň, rákosiny; napočítáno 84 chromozomů.



Obrázek 10: Fotografie roztlakového preparátů kořenové špičky *C. dentata*. Jedinec CSB_8, České Budějovice výstaviště, napočítáno ca 77 chromozomů.



Obrázek 11: Fotografie roztlakového preparátů kořenové špičky *C. dentata*. Jedinec KRC_6, u Švarcenberského rybníka, napočítáno 84 chromozomů.



Obrázek 12: Fotografie roztlakového preparátů kořenové špičky *C. dentata*. Jedinec CD4_1, Malšovice u jezu, napočítáno 74 chromozomů.

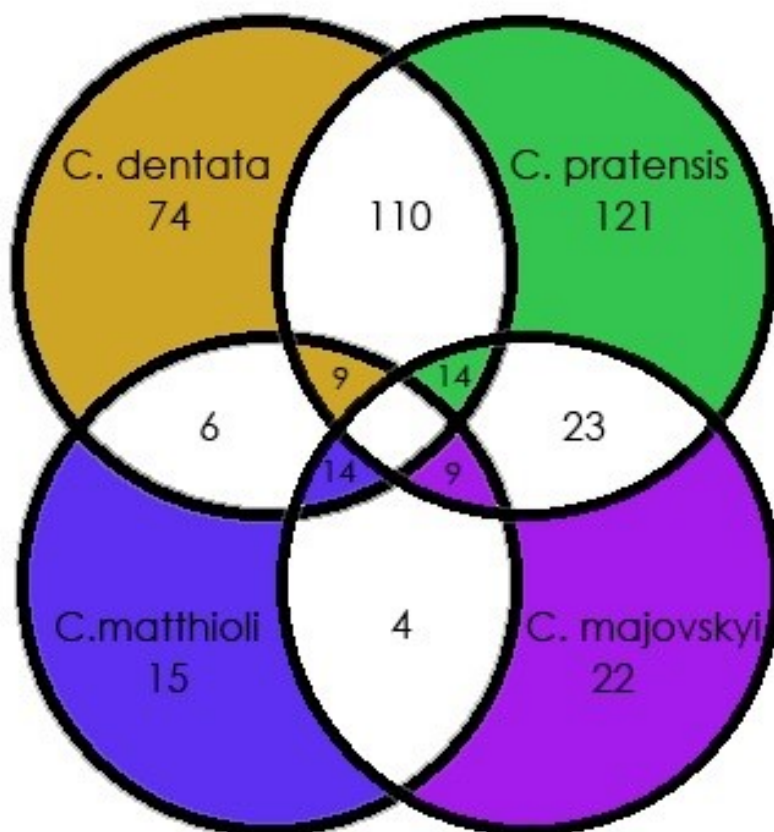
3.4 Výsledky statistického vyhodnocení mikrosatelitových dat

Materiál použitý na analýzu mikrosatelitových dat je uveden v Tabulce 1 v kapitole Materiál a metody.

3.4.1 Výsledky analýzy privátních alel

Tabulka 7: Privátní alely. Zobrazující počet populací, počet jedinců, celkový počet alel a počet privátních alel pro jednotlivé populace druhů.

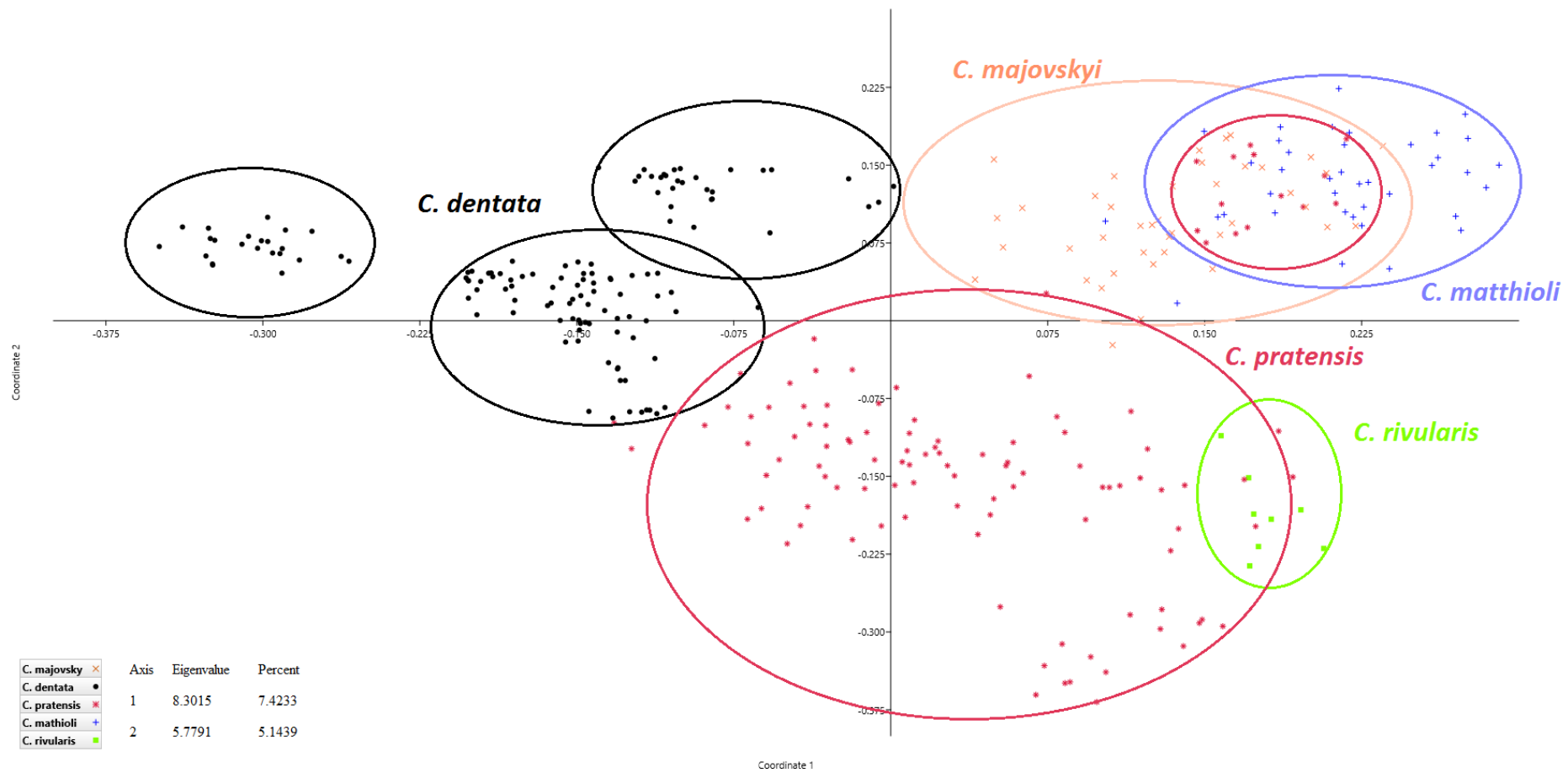
	C. dentata	C. pratensis	C. Matthioli	C. majovskyi	C. rivularis
Počet populací	18	15	6	5	1
Počet jedinců	132	110	40	41	8
Alely	527	605	285	365	74
Privátní alely	74	121	15	22	3



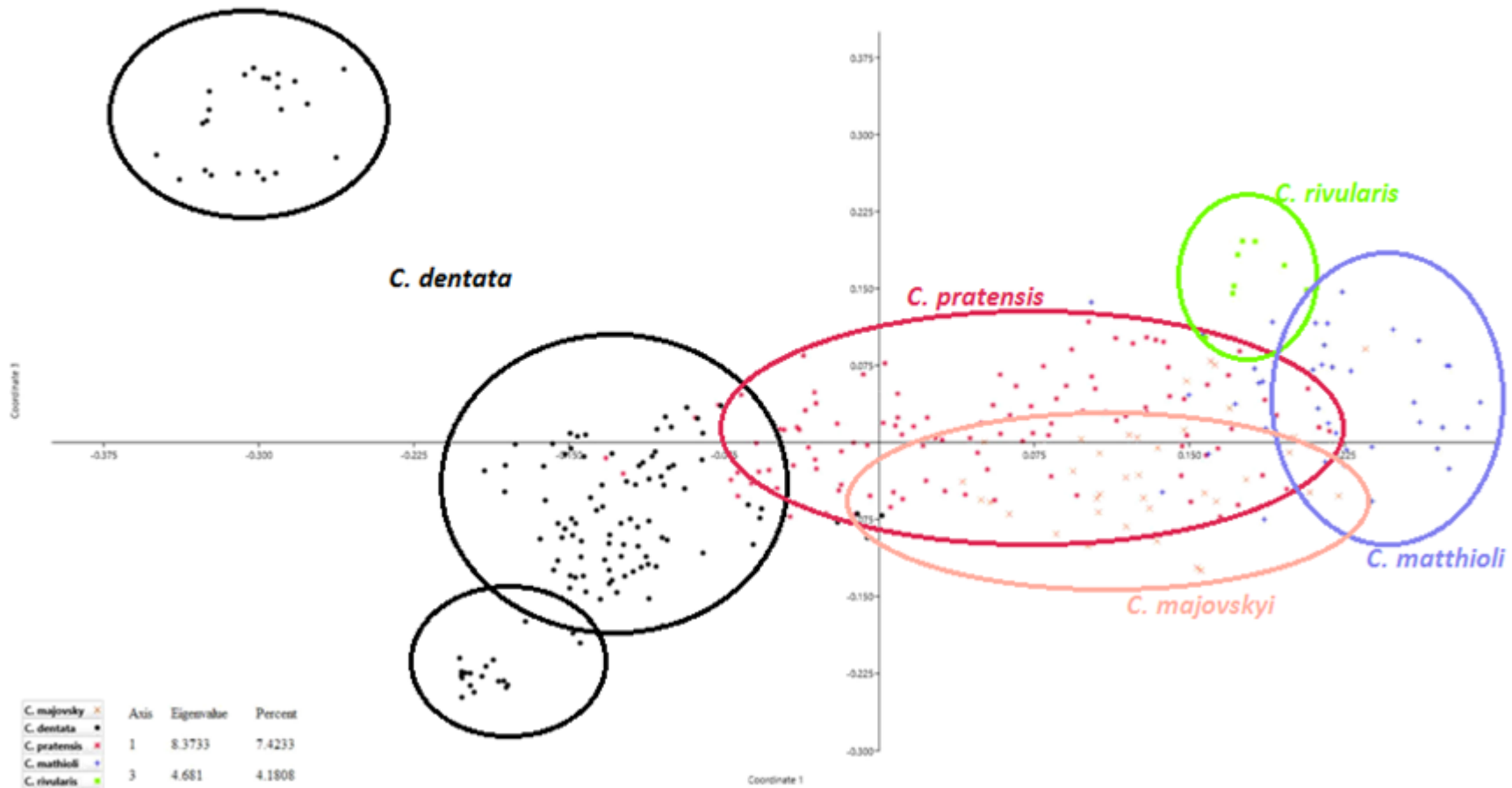
Obrázek 13: Sdílené alely. Na obrázku v kružnicích jsou vidět jednotlivé druhy s počty privátních alel. V bílých polích kružnic jsou počty sdílených alel mezi sousedními druhy. Uprostřed jsou počty sdílených alel druhů ležících naproti sobě.

3.4.2 Výsledky analýzy hlavních koordinát (PCoA)

Analýza hlavních koordinát byla aplikována na matici podobností vypočítaných podle Jaccardova indexu (Jaccard 1901). Ukazuje podobné rozdělení skupin druhů (Obrázky 14, 15), jako NJ strom viz níže. Z obrázků je patrné, že největší rozdíly jsou mezi jednotlivými druhy (první osa vysvětluje nejvíce variability a vzorky jsou podle ní zřetelně odděleny). Variabilita vysvětlená prvními třemi osami: 1. osa 7,42 %, 2. osa 5,14 % a 3. osa 4,18 %. *C. dentata* v grafu utvořila samostatnou skupinu, která se rozdělila na tři podskupiny, které jsou si více či méně podobné podle počtu chromozomů. Nejvzdálenější skupina, která je tvořena jedinci z populací KRC, DIV, CD6 a ZABL, odpovídá chromozomovým počtům ca 82–85. Jedinci z populací VAJ, LEL, RAD a MOK odpovídá chromozomovým počtům 92–95. Třetí a největší skupina, která je nejbližší *C. pratensis*, je pravděpodobně náhodně uskupená, jelikož se v ní vyskytují jedinci s nejmenším a největším počtem chromozomů. Z obrázků je dále patrné, že nejpodobnější *C. dentata* je *C. pratensis*, jelikož je jí v grafu nejbližší. Naopak nejméně podobné jsou jí *C. matthioli* a *C. rivularis*. *C. majovskyi* se částečně překrývá s *C. matthioli*, což by mohlo indikovat polytopický původ autotetraploida *C. majovskyi*, který je zřejmý především z analýz rozsáhlejšího materiálu (Karol Marhold, ústní sdělení). Analýza hlavních koordinát neoddělila jednotlivé druhy podle geografických oblastí. Je zřejmý též překryv některých rostlin *C. pratensis* s *C. majovskyi*, který by mohl indikovat snad dávnější hybridizaci těchto druhů.



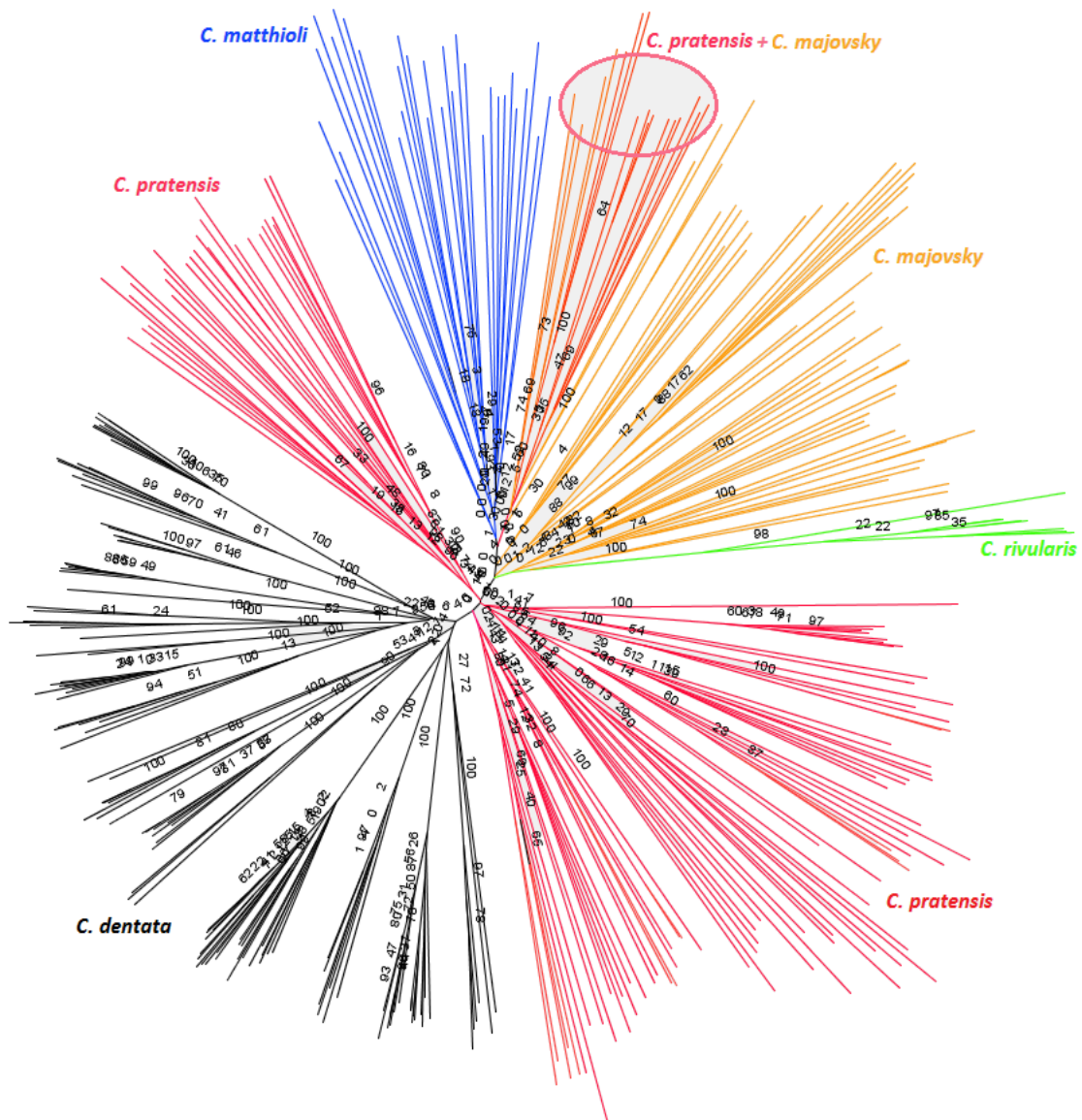
Obrázek 14: Ordinační diagram analýzy hlavních koordinát mikrosatelitových dat *Cardamine dentata* a dalších druhů ze skupiny *C. pratensis*. Variabilita vysvětlená první a druhou osou.



Obrázek 15: Ordinační diagram analýzy hlavních koordinát mikrosatelitových dat *Cardamine dentata* a dalších druhů ze skupiny *C. pratensis*. Variabilita vysvětlená první a třetí osou.

3.4.2 Výsledky analýzy Neighbour Joining Tree

Fylogenetický strom, který je zde prezentován (Obrázek 16), byl vytvořen metodou Neighbor-Joining Tree (Saitou & Nei 1987). S užitím Jaccardova koeficientu podobnosti (Jaccard 1901) a s metodou bootstrapu, v níž byla nastavena hodnota 5000 opakování, čímž byla určena statistická podpora jednotlivých větví. Na stromu je patrné oddělení jednotlivých druhů, kde *C. dentata* utvořila jednu velkou homogenní skupinu.



Obrázek 16: Zobrazení NJ tree pomocí Fig tree 1.4.3. Výsledky NJ diagramu ukazují, že rozdělení do skupin má sice jenom málo podpořené větve, ale jednotlivé druhy mají podpory větví vysoké.

Další samostatnou skupinu utvořila také *C. rivularis*. Zajímavé je seskupování se populací *C. matthioli* a *C. majovskyi*, které tvoří oddělené shluky, což by mohlo protirečit polytopickému původu autoploidního druhu *C. majovskyi*. U *C. pratensis* se ukazuje, že zřejmě v dané skupině nemá monofyletický původ.

3.4.3 Výsledky počtu genotypů v populaci - genotypová diverzita

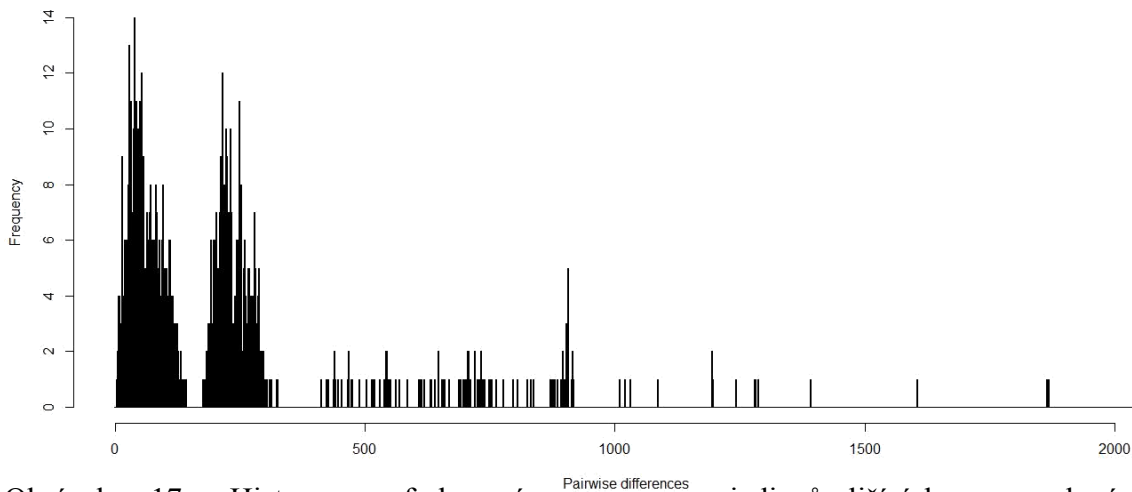
Byl zadán příkaz Clones, který slouží k vyhledání klonů – tedy jedinců lišících se maximálně o x fragmentů (x bývá zvoleno a priori, např. na základě spočítané error rate, pro následující výpočet bylo zvoleno $x=1$). Byla vytvořena tabulka (Tabulka 8) s počtem genotypů a genotypovou diverzitou v populacích a obrázek s histogram frekvencí jedinců lišících se o daný počet fragmentů, kde v obou případech můžeme vidět, že v ani jedné populaci nebyl nalezen klon.

Tabulka 8: Počet genotypů a genotypová diverzita v populacích v rámci populací

vzorek	n	počet genotypů	efektivní počet genotypů	genová diverzita
BOZ	8	8	8	-2.26990692864529
CD1	8	8	8	-0.277552075638942
CD2	8	8	8	0.0271458117890383
CD3	10	10	10	-1.93308054693784
CD4	8	8	8	-3.95069434185256
CD5	9	9	9	-0.158623463173618
CD6	10	10	10	-1.39639204871883
CES	9	9	9	-0.66028955532575
CP5	8	8	8	-3.96391638351307
CSB	7	7	7	-1.37302408036638
DE3	7	7	7	-2.63790811050377
DE9	8	8	8	-2.29106958191757
DEM	7	7	7	-2.07583591864874
DIV	4	4	4	-1.23888314374354
DRZ	7	7	7	-1.6844437878564
GRC	8	8	8	-1.02271384251736
GRM	8	8	8	-0.91232087457527
GUL	8	8	8	-1.58727286157483
GUS	8	8	8	-0.583690353080219
INT	8	8	8	-1.31079184517654
KAR	8	8	8	0.0490101935293249
KES	9	9	9	-3.90187291738481
KOR	8	8	8	-4.1664943123061

KRC	8	8	8	-5.58136356921259
LBA	8	8	8	-1.6324420150687
LEL	7	7	7	-1.85581326636135
MAK	5	5	5	-1.21882109617373
MOK	15	15	15	-1.66443098438962
PLA	10	10	10	-3.12172813972193
PRA	8	8	8	-1.05883439208155
PTR	8	8	8	-0.0328335056876939
RAD	9	9	9	-1.78737217051591
SEV	8	8	8	-1.60599793174767
SLH	8	8	8	-0.584022750775595
SOGN	8	8	8	-0.392377012852711
STA	4	4	4	-6.68958979662185
VAJ	8	8	8	-1.70294725956567
VIS	6	6	6	-1.93223026542572
VRE	7	7	7	-0.771950558920569
WIL	9	9	9	-2.40888199471447
ZABL	4	4	4	-1.17821440882454
ZDL	8	8	8	-1.61548973260452

Histogram of the number of pairwise differences within pop

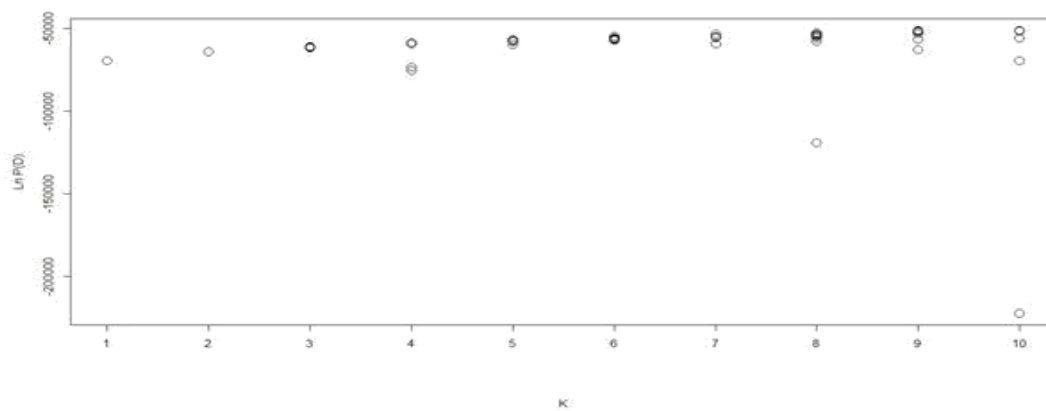


Obrázek 17: Histogram frekvencí jedinců lišících se o daný počet fragmentů (pairwise differences) v rámci populací. Zobrazuje frekvenci jednotlivých párových vzdáleností (co do počtu odlišných fragmentů) v rámci populací.

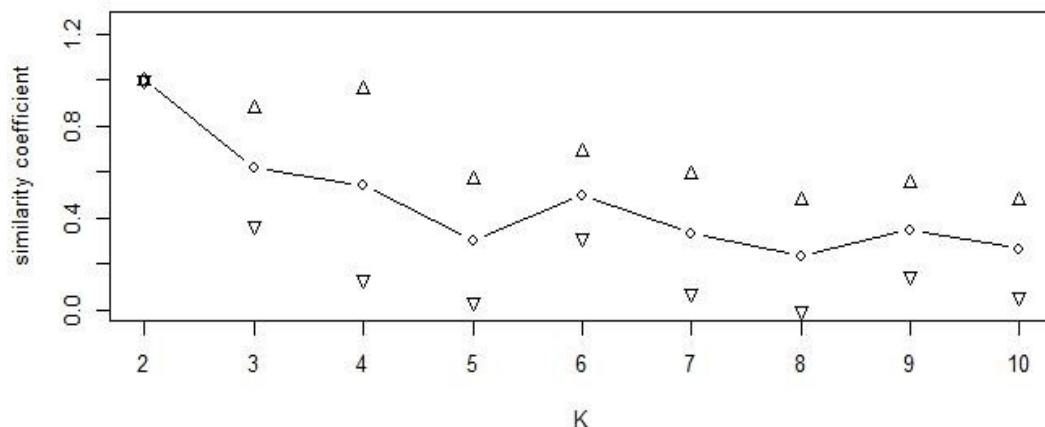
Příkazem Clones.list byl vytvořen seznam možných klonů, tj. genotypů lišících se o maximálně zadaný počet fragmentů (1). V tomto případě bylo potvrzeno, že v ani jedné populaci není klon, protože se vytvořil prázdný seznam možných klonů.

3.4.4 Výsledky analýzy pomocí skriptu Structure-sum pro celý dataset

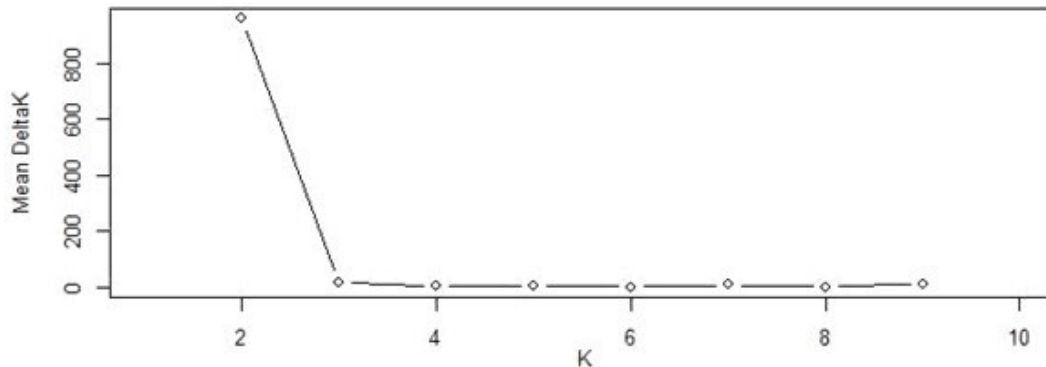
Program STRUCTURE a následná analýza výstupů pomocí skriptu Structure-sum (Ehrich & al. 2007) určila jako nejlepší rozdělení všech jedinců do dvou skupin ($K = 2$). Při pohledu na Obrázek 18, který znázorňuje pravděpodobnost modelu $[\text{LnP}(D)]$ se vzrůstajícím počtem skupin (K), je patrné, že v případě, kdy je počet skupin dva ($K = 2$), dochází v tomto bodě k narovnávání křivky. Graf na Obrázku 19 znázorňuje podobnost mezi jednotlivými běhy algoritmu pro dané K (Nordborg & al. 2005). Nejvyšší koeficient podobnosti (similarity koeficient) má pouze $K = 2$. Třetí graf, na Obrázku 20 znázorňuje tzv. deltaK (Evano & al. 2005), které je jednoznačně nejvyšší pro $K = 2$.



Obrázek 18: Pravděpodobnost modelu ($\text{LnP}(D)$) se vzrůstajícím počtem skupin (K). Na ose x jsou určené počty skupin, na ose y logaritmus pravděpodobnosti modelu. Ideál ní počet skupin je 2 ($K = 2$), protože v tomto bodě dochází k narovnávání křivky. Výstup analýzy z programu STRUCTURE zpracovaný pomocí skriptů Structure-sum.



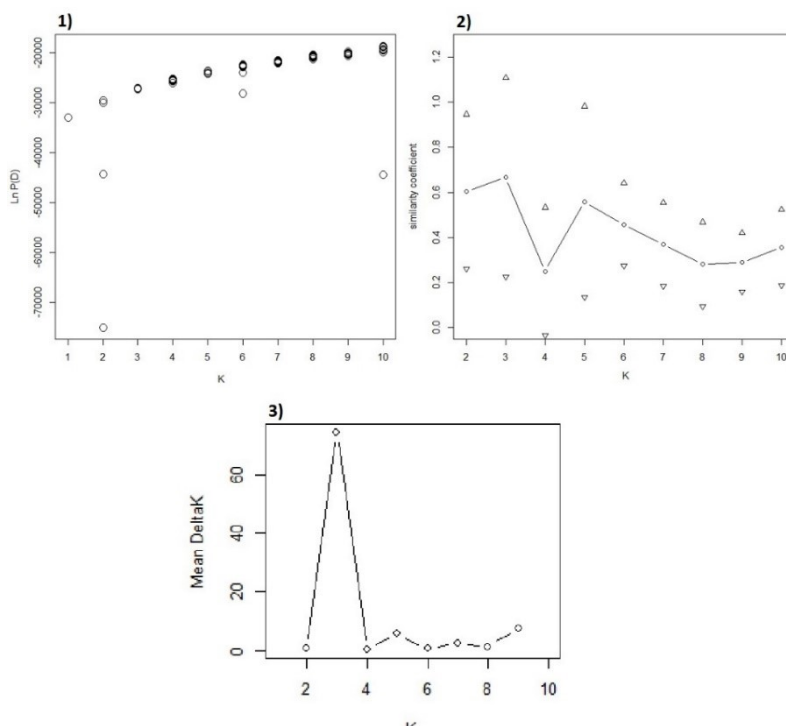
Obrázek 29: Podobnost mezi jednotlivými běhy algoritmu pro dané K. Na ose x jsou určeny počty skupin, na ose y koeficient podobnosti. Jako nejlepší vychází rozdělení do dvou skupin ($K = 2$), protože má nejvyšší koeficient podobnosti. Výstup analýzy z programu STRUCTURE zpracovaný pomocí skriptů Structure-sum.



Obrázek 20: Optimální počet shluků. Na ose x jsou určeny počty skupin, na ose y deltaK. Nejlepší rozdělení jedinců je do dvou skupin ($K = 2$), protože má nejvyšší deltaK. Výstup analýzy z programu STRUCTURE zpracovaný pomocí skriptů Structure-sum.

3.4.5 Výsledky skriptu Structure-sum pro populace *C. dentata*

Analýza výstupů programu STRUCTURE pomocí skriptu Structure-sum (Ehrich & al. 2007) určila jako nejlepší rozdělení všech jedinců *C. dentata* do tří skupin ($K = 3$). Při pohledu na první graf na Obrázku 21, který znázorňuje pravděpodobnost modelu $[LnP(D)]$ se vzrůstajícím počtem skupin (K), je patrné, že v případě, kdy je počet skupin tři ($K = 3$), dochází v tomto bodě k narovnávání křivky. 2005), které je jednoznačně nejvyšší pro $K = 3$.



Obrázek 21:

1) Pravděpodobnost modelu ($\ln P(D)$) se vzrůstajícím počtem skupin (K); 2) Podobnost mezi jednotlivými běhy algoritmu pro dané K ; 3) Optimální počet shluků.

Druhý graf na Obrázku 21 znázorňuje podobnost mezi jednotlivými běhy algoritmu pro dané K (Nordborg & al. 2005). Nejvyšší koeficient podobnosti (similarity koeficient) má pouze $K = 3$. Třetí graf na Obrázku 21 znázorňuje tzv. deltaK (Evano & al. 2005).

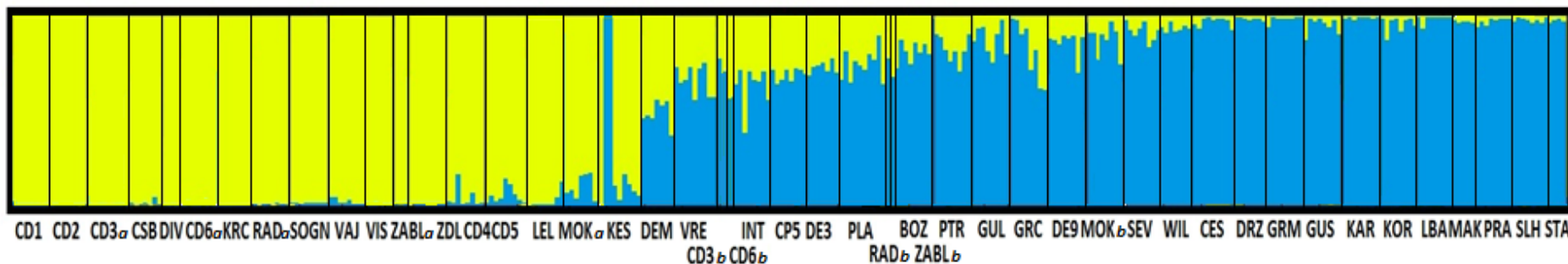
3.4.6 Výsledek programu Dstruct pro celý dataset

Grafické znázornění rozřazení jedinců je vidět na sloupcovém diagramu na Obrázku 22. Vytvořily se jasně oddělené skupiny podle populací, odpovídající počtu shluků $K = 2$. Populace *C. dentata* mají čistě žlutou barvu, ostatní druhy mají barvu modrou. Z diagramu můžeme usoudit, že všechny druhy, které nemají čistě modré proužky, mají společnou část genomu s *C. dentata*.

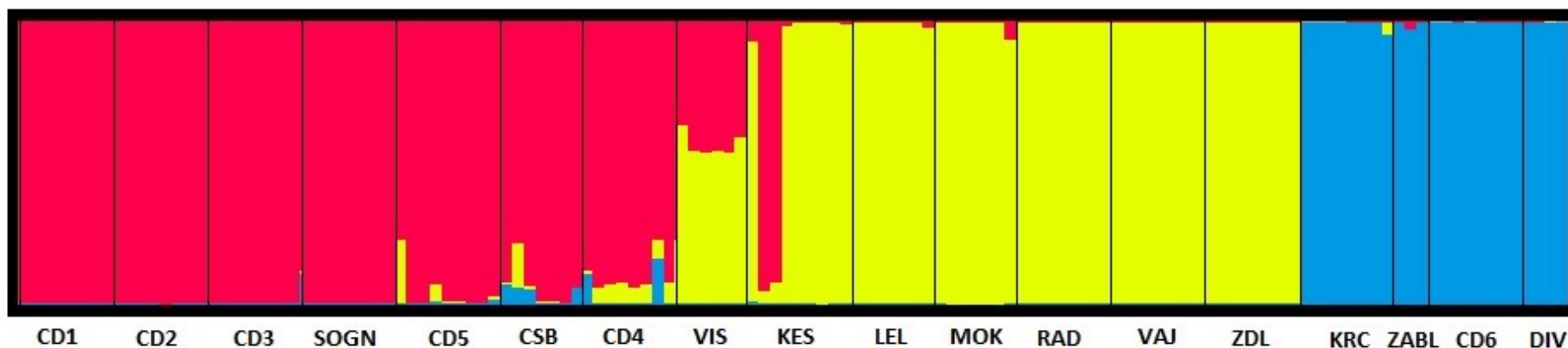
3.4.7 Výsledek programu Dstruct pro populace *C. dentata*

Na Obrázku 23 se vytvořily tři jasně oddělené skupiny *C. dentata* odpovídající počtu shluků $K = 3$. Modré pole v diagramu odpovídá českým populacím s 82–85 chromozomy. Červené pole v diagramu odpovídá českým a norským populacím. Vložení norské populace SOGN by se dalo vysvětlit tím, že obsahuje dekaploidní jedince stejně jako české populace (74-84 chromozomů), kromě populace CD5, která je undekaploid (84-88 chromozomů). Žluté pole v diagramu jsou maďarsko-slovenské populace VAJ, RAD, MOK, LEL s 92-95 chromozomy

kromě populací VIS a KES, které obsahují dekaploidní jedince se 70 a méně než 85 chromozomy. Populace ZDL jsou tetradekaploidní se 115 a 117 chromozomy.



Obrázek 22: Grafické znázornění diagramu nejlepšího rozdělení jedinců do skupin podle genetické podobnosti z programu STRUCTURE. Poměr barev ve sloupci odpovídá pravděpodobnosti příslušnosti daného jedince do dané skupiny. *C. dentata* (CD1, CD2, CD3a, CD4, CD5, CD6a, CSB, DIV, KES, KRC, LEL, MOKa, RADa, SOGN, VAJ, VIS, ZABLa, ZDL); *C. pratensis* (CD3b, CD6b, CES, CP5, DE3, DE9, DEM, GRC, INT, KOR, PLA, PRA, SEV, VRE, VIL, ZABLb); *C. majovskyi* (BOZ, GUL, GUS, MOKb, PTR, RADb); *C. matthioli* (DRZ, GRM, KAR, MAK, SLH, STA); *C. rivularis* (LBA).



Obrázek 23: Grafické znázornění diagramu nejlepšího rozdělení jedinců *C. dentata* do skupin podle genetické podobnosti z programu STRUCTURE.

4. Diskuse

4.1 Zhodnocení výsledků mikrosatelitových markerů

Předchozí studie v čeledi *Brassicaceae* prokázaly význam molekulárních markerů pro biogeografické analýzy (např. u rodu *Arabidopsis*: Mummenhoff a Hurka 1995; *Cardamine*: Franzke & al. 1998, *Capsella*: Neuffer a Hůrka 1999; *Cochlearia*: Koch & al. 1996, *Lepidium*: Mummenhoff & al. 1992).

Příspěvky během posledních čtyř desetiletí výrazně rozšířily naše znalosti o komplexu *Cardamine pratensis*. Byly především zaměřeny na určité taxony, anebo se soustředily na omezené geografické regiony: Belgie a Severní Francie: Vyvey a Stieperaere (1984); asijskou část bývalého Sovětského svazu: Khatri (1989); Anglie: Dale a Elkington (1974); Nizozemsko: Berg (1967); Švýcarské Alpy a pohoří Jura: Landolt a Urbanska-Worytkiewicz (1971); Švýcarsko: Landolt (1984); diploidní taxony ze střední Evropy: Urbanska-Worytkiewicz a Landolt (1974a,b), Dersch (1969); Karpaty a Panonie: Marhold (1994a). Nicméně nejvlivnější příspěvek napsal před delším časem Lövkvist (1956).

Lövkvist rozdělil *C. pratensis* s. l. do tří skupin: arktickou skupinu, skupinu s plazivým oddenkem a temperátní skupinu. Lövkvist (1956) byl přesvědčen, že vysoce polyploidní rostliny mají cirkumpolární rozšíření a zařadil je do arktické skupiny, která měla vzniknout v pozdním Terciéru. Skupina s plazivým oddenkem obsahující diploidní *C. crassifolia* z Pyrenejského poloostrova, byla z Lövkvistova pohledu izolovanou jednotkou, jejíž současné, zřejmě reliktní rozšíření může být pozůstatkem zalednění v Pleistocénu.

Pomocí molekulárních analýz jako jsou ITS a cpDNA, a RAPD se podařilo Lövkvistovo rozdělení komplexu *C. pratensis* poupravit. Franzke a Hurka (2000) upozornili na to, že druh *C. rivularis* je spolu s *C. penzesii* jedním z bazálních druhů skupiny *C. pratensis*, zatímco druhy *C. dentata*, *C. pratensis* (se všemi cytotypy), *C. granulosa*, *C. matthioli* a *C. majovskyi* byly zařazeny do skupiny mladších, odvozených druhů. Diploidní *C. crassifolia* tvoří vlastní izolovanou skupinu.

Mikrosatelitové markery byly už několikrát v rodu *Cardamine* úspěšně využity – jmenovitě ve skupinách *C. pratensis* agg. a *C. amara*. Při studiu hybridizace druhů *C. amara* ($2n = 16$) a *C. rivularis* auct. ($2n = 16$) na lokalitě Urnerboden ve Švýcarsku se potvrdil původ triploidního hybridního taxonu *C. ×insueta* z těchto dvou druhů, přičemž se ukázalo, že tento

hybrid vznikl opakovaně. Dále se pomocí mikrosatelitových markerů potvrdilo, že hybridogenní druh *C. schulzii* z té samé lokality v sobě zahrnuje tři rodičovské genomy, jmenovitě *C. amara* ($2n = 16$), *C. pratensis* ($2n = 16$) a *C. pratensis* ($2n = 30$). Zároveň se potvrdilo, že dva cytotypy *C. schulzii*, hypopentaploidní a hypoheptaploidní jsou geneticky uniformní (Zozomová-Lihová & al. 2014). Podobně se tyto markery ukázaly jako nesmírně užitečné při studiu autopolyloidního poddruhu *C. amara subsp. austriaca*, který vzniknul z diploidního poddruhu *C. amara subsp. amara* (Zozomová-Lihová & al. 2015). Spolu s daty z AFLP markerů mikrosatelity poukazují na skutečnost, že tetraploidní poddruh ve studovaném území má zřejmě monofyletický původ. Tyto výsledky nás vedly k využití mikrosatelitových markerů pro studium druhu *C. dentata* a jeho srovnání s druhy *C. majovskyi*, *C. matthioli*, *C. pratensis* a *C. rivularis*. I když uplatnění mikrosatelitových markerů u vysokých polyploidů může být problematické, přesto by tento přístup jistě výsledky mohl přinést.

Výsledky analýz mikrosatelitových markerů *C. dentata*, a dalších blízkce příbuzných druhů poukazují na skutečnost, že rostliny vyšších ploidií ze skupiny *C. pratensis*, které byly identifikovány jako *C. dentata*, jsou geneticky odlišné od ostatních druhů této skupiny, a jak je vidět z Tabulky 9, mají všechny studované druhy vysoké počty privátních alel. Dá se tedy usuzovat, že *C. dentata* a ostatní druhy jsou z tohoto hlediska dobře definovanými druhy. Samotné vzorky *C. dentata* se seskupovaly do jisté míry podle ploidní úrovně, což by indikovalo do jisté míry různý původ jednotlivých seskupení vysokých polyploidů. Tato otázka si ale vyžaduje další, podobnější analýzy. Ze získaných dat se nedá jednoznačně určit původ polyploidního druhu *C. dentata*, indikací snad může být vysoký počet sdílených alel *C. pratensis* a *C. dentata*, blízkost jejich vzorků na ordinačním diagramu PCoA, a také poměr žlutých a modrých proužků dle výsledků programu STRUCTURE. Výsledky NJ diagramu jsou shodné s výsledky programu STRUCTURE, skupiny mají sice jenom málo podpořené větve, ale jednotlivé druhy mají podpory větví vysoké. Co se týká dalších studovaných druhů, je zajímavé, že druh *C. pratensis* zřejmě tvoří jednu genetickou skupinu (i když zřejmě jde z taxonomického hlediska o autopolyploidy), což se dalo částečně předpokládat z cytotypové variability tohoto druhu (podrobněji v práci Marhold & Lihová 2006). Velmi výrazně izolovanou skupinu v našem materiálu tvoří druh *C. rivularis*, zatímco diploidní druh *C. matthioli* a jeho autotetraploid *C. majovskyi* tvoří do jisté míry promíchaný shluk, což by mohlo podporovat hypotézu o polytopickém původu tetraploida. Opakující se polytopický vznik autopolyloidních taxonů není úplně vzácným jevem. Byl v poslední době zaznamenán i u několika druhů skupiny *Asteraceae* (např. Mráz & al. 2008; Grubbs & al. 2009; Richardson

& al. 2012). Například u druhu *Jacobea vulgaris* ve Švédsku nebyl počet polyploidizačních jevů, které vedly k tvorbě oktoploidů, vysoký. AFLP data ze studie Hodálové & al. (2015) naznačují, že oktoploidní jedinci vznikly v evoluční historii *J. vulgaris* dvakrát nezávisle na sobě. Jedna polyploidizační událost je reprezentována panonskými a ölandskými oktoploidy a druhá podillyanskými a gotlandskými oktoploidy. Nelze však úplně vyloučit, že seskupení těchto čtyř genotypů do dvou linií v AFLP analýze je pouze výsledkem úzké genetické příbuznosti tetraploidních předků (Hodálová & al. 2015). Důvod, proč se mezi populacemi *C. matthioli* a *C. majovskyi* na NJ diagramu a na ordinačním diagramu PCoA objevuje několik rostlin *C. pratensis*, si vyžaduje ještě podrobnější zkoumání.

4.2 Ploidie a chromozomové počty

Chromozomové počty druhu *Cardamine dentata* byly studovány podrobně několika autory (Lökvist 1956, Berg & Segal 1966, Banach 1950, Marhold 1984). Jelikož žádný z autorů neudává počty z České republiky, můžeme výsledky počítání v této práci brát jako doplnění doposud známých dat. V dosud publikovaných počtech, jsou v Evropě udávány hyperhexaploidní až pentadekaploidní populace, s počty 52–118 chromozomů, což potvrzují také autoři Jalas a Suominen (1994), kteří uvádějí, že *C. dentata* má od 56 do 113 chromozomů.

Rostliny, které morfologicky odpovídají *C. dentata*, mají chromozomové počty, které odpovídají vysokému stupni ploidie, v případě českých lokalit byly zjištěny dekaploidní až undekaploidní populace se 74 - 88 chromozomy. Potvrdilo se, že morfologické znaky, kterými je druh *C. dentata* charakterizovaný, skutečně odpovídají vysokému stupni polyploidie.

Na Obrázku 24 je vidět mapa Evropy s vyznačenými státy, odkud jsou udávány počty chromozomů. Na pravé straně jsou červeně vyznačeny počty zjištěné v této práci, modře jsou vyznačeny počty od Barbory Šingliarové z Bratislavy, které dosud nejsou publikované, a černě, jsou vyznačeny počty doposud známé z literatury.



Obrázek 24: Chromozomové počty druhu *Cardamine dentata* v Evropě

4.3 Zhodnocení míry ohrožení druhu *C. dentata* v Česku

Rostlina není ohrožena jako taková, ale biotopy, na kterých se vyskytuje, ohroženy jsou. Je velmi citlivá k odvodnění a na mnoha místech výskytu, uvedených v této práci, v důsledku melioračních úprav vyhynula, nebo se stala nezvěstnou. Po případném zamokření lokality je možné, že se rostlina opět objeví. Při pohledu na mapy rozšíření (v kapitole Úvod) ČNFD a NDOP AOPK ČR je vidět, že lokalit za posledních několik let přibylo, zejména ve východních Čechách. Bohužel nemůžeme tyto údaje považovat jednoznačně za hodnověrné, protože většinou chybí dokladový materiál. Navíc je rostlina často přehlížena, jelikož dochází k častým záměnám, zejména pokud se na lokalitě vyskytuje s jiným druhem z okruhu *Cardamine pratensis* agg. Díky tomuto důvodu lze soudit, že její zařazení, v kategorii C3 – ohrožené rostliny, v červeném seznamu ČR (Grulich 2012) je správné.

4.4 Rozšíření *C. dentata* v ČR

V České republice roste roztroušeně na vhodných místech v nížinách, méně pak v pahorkatinách. Jako centrum rozšíření je možné označit údolí velkých řek, jako jsou Labe, Morava, Dyje a také oblasti rybníků na území jižních Čech. *Cardamine dentata* je rozšířená ve všech geografických oblastech České republiky.

4.4.1 Zhodnocení výskytu *C. dentata* z hlediska fyto geografie

Termofytikum

V Českém termofytiku je doložená 66 herbářovými položkami v 15 fyto geografických okresech, jsou to 4b, 5a, 6, 7a, 7c, 10b, 11a, 11b, 12, 13a, 13b, 14a, 15b, 15b, 15c. Jedná se o směs velmi starých (1836) ale i novějších údajů (2009).

Lokalita: Litoměřice - louky u Labe pod plynárnou, jedná se o starší údaj, který nebylo možné ověřit, protože louky byly zastavěné.; České Kopisty - mokřad pod Terezínskou pevností, jedná se o starší údaj, na této lokalitě se nepodařilo nález ověřit, ale je možné, že se zde znovu v budoucnu objeví. Podmínky na lokalitě byly příznivé.; Čelechovice - rybníček Konopas, jedná se o nový údaj, ale bohužel se nález nepodařilo ověřit pravděpodobně díky tomu, že rybník byl vypuštěný. Je možné, že se rostlina v budoucnu zase objeví.; Kamenné Žehrovice – Turyňský rybník, nález se nepodařilo ověřit, i když se jedná o jeden z novějších údajů. Lokalita vypadala dobře, pravděpodobně se zde v budoucnu rostlina objeví.; Kostelec n. Ohří - PR Myslivna, i když se jedná o starší údaj, lokalita je sice nádherná, ale nález se nepodařilo

ověřit. Je možné, že se tu rostlina v budoucnu znovu objeví.; Mladá Boleslav – Zvířetice, jedná se o starší údaj a díky tomu, že v okolí hradu je docela sucho, nepředpokládám, že by se tu rostlina objevila znovu.; Hleďsebe - olšiny u Pšovky, jedná se o velmi starý údaj, kde se nepodařilo ověřit výskyt, na mělčích místech rostla ve velkém množství *Cardamine amara* L., v budoucnu je zde výskyt možný.; Benátky n. Jizerou – Kbely – tůň, velmi starý údaj, který se nepodařilo ověřit, tůň byly dost znečištěné, nicméně je zde možný výskyt v příbřežních porostech rákosu.; Loučeň - dno rybníka za Novým rybníkem, jedná se o starší údaj, který se nepodařilo se ověřit, díky postupné sukcesi zde bylo spoustu náletů břízy, myslím si, že výskyt zde už není možný.; Dušníky n. Vltavou - Černá tůň, jedná se o nový údaj, ale nález se nepodařilo ověřit, výskyt v budoucnu je možný.; Lobeček – tůň, nový údaj, který se nepodařilo ověřit, dnes už je součástí města Kralupy nad Vltavou, výskyt zde není možný.; Tuháň – Červená píska v Městském lese, jedná o novější údaj, lokalita vypadá dobře, bohužel se nepodařilo ověřit výskyt, v budoucnu je zde výskyt možný.; Dřísy - V Rákosí, jedná se o velmi starý údaj, který se nepodařilo ověřit a není možné, že by se zde v budoucnu rostlina objevila.; Praha – Klánovice, novější údaj, nepodařilo se ověřit, ale výskyt je zde určitě možný.; Čelákovice – Grádo, podařilo se ověřit nález, rostlina rostla v hojném počtu při břehu v rákosinách a pravděpodobně se jedná o stabilní populaci.; Byšičky - PR Hrbáčkovy tůň, lokalitu se nepodařilo ověřit, i když se jedná o novější údaj.; Lysá n. Labem - pískovna u Řehákovy boudy, novější údaj, který se nepodařilo ověřit, ale je dost možné, že se v budoucnu objeví v příbřežních porostech chrastice.; Semice - tůň u výpusti a rákosiny, jedná se o velmi starý údaj, který se podařilo ověřit, *C. dentata* zde rostla pospolu s několika jedinci *C. pratensis* v porostech rákosu, stabilní populace.; Ostrá - tůň v Mydlovarském luhu, jedná se o starší údaj, ale bohužel se ho nepodařilo ověřit.; Kostomlaty - u zdymadla, jedná se o novější údaj, který se nepodařilo ověřit. Lokalita vypadala v pořádku a je možné v budoucnu očekávat výskyt.; Oseček - slepé rameno Labe, lokalitu se podařilo ověřit a je možné očekávat výskyt i v budoucnu, dokonce se podařilo ověřit rostlinu popsanou na herbářové schedě (rostla na dubu spadlém ve vodě).; Velký Osek - osecká louka, nový údaj, který se nepodařilo ověřit, lokalita byla podmáčená a je tedy možné očekávat výskyt v budoucnu.; Libický luh – Havrany, starší údaj, který se podařilo ověřit, populaci se na lokalitě dařilo a je možné očekávat výskyt i v budoucích letech.; Libický luh - za Máčidlem, nepodařilo se ověřit, i když lokalita vypadala moc hezky, je možné zde očekávat výskyt v budoucnu.; Velký Osek - koryto Bačovky, novější údaj, který se nepodařilo ověřit, i při projití celého koryta městem, zde pravděpodobně už nebude výskyt možný díky zpevňování břehů.; Sány - dávný meandr Cydliny, novější údaj, bohužel se ho nepodařilo ověřit, velmi podobná lokalita jako v

Semicích, výskyt v budoucnu je možný.; Opolánky - vodní příkop, jedná se o starší údaj, který nebylo možné ověřit, protože příkopy ve vsi byly upraveny.; Žehuňský rybník, nový údaj, který nebyl ověřen, avšak je možné zde výskyt očekávat, jelikož se jedná o pěknou a rozsáhlou lokalitu.; Lhota p. Přeloučí - PP Labe Votoka, krásná lokalita, kde nebyl ověřen výskyt, ale je možné zde výskyt očekávat.; Záboří n. Labem - PR Na hornické, novější údaj, lokalita vypadá dobře, ale nález nebyl ověřen.; Malšova Lhota - tůň u Stříbrného rybníka, lokalita byla ověřena, pravděpodobně byly využívány jako sádky, rostliny rostly při kraji tůní a na bultech ostřic.

V Panonském termofytiku je doložena 37 herbářovými položkami z 5 fyto geografických okresů, jsou to 16, 18a, 18b, 20b a 21b. Jedná se vesměs o staré údaje. Bohužel ani na jedné lokalitě nebyl ověřen výskyt. Lokality: Dolní Věstonice - Horní luh, jedná se o starší údaj, jelikož lokalita odpovídala tvrdému luhu, nepředpokládal bych zde výskyt.; Brno - louky u Vranovic, jedná se o hodně staré a strašné údaje, které nebylo možné ověřit, neboť na místech, kde se měla rostlina vyskytovat, byla městská zástavba.; Strachtín - okraj lužního lesa, starší údaj, který nebyl ověřen, ale je možné, že se tu rostlina v budoucnu objeví.; Lanžhot - obora Soutok a lanžhotské louky, starší údaje a jedny z prvních lokalit, které byly navštíveny, bohužel se nepodařilo nálezy ověřit, kvůli rozsáhlým změnám biotopů.

Mezofytikum

V Českomoravském mezofytiku je výskyt *C. dentata* doložen 81 herbářovými položkami z 24 fyto geografických okresů. Jsou to 24b, 25a, 37p, 38, 39, 42b, 45a, 47, 52, 53a, 53c, 55b, 56b, 61b, 61c, 62, 63e, 65, 67, 68, 69a, 70, 71b, 72. Jsou to jak staré (1863), tak i novější údaje (2009).

Lokality: Chřibská - louka u kostela, jedná se o podmáčenou louku s hojným výskytem *C. pratensis*. Výskyt zde potvrzen nebyl, ale není vyloučeno, že by se zde mohla rostlina znovu objevit.; Chřibská - Marschnerova louka, další z podmáčených luk v okolí Chřibské, Výskyt zde potvrzen nebyl, ale ani zde není vyloučen opětovný nález.; Nakléřov - mokré louky k Libouchci, starší údaj, který nebyl potvrzen.; Babiny I - vlhké louky, starší údaj, který nebyl potvrzen, protože z podmáčených luk se staly pastviny. Výskyt zde pravděpodobně nebude možný.; Ostrov - PR Ostrovské rybníky, starší údaj, bohužel nebyl potvrzen, lokalita vypadala pro výskyt vhodná a tak je možné, že se v budoucnu znovu vyskytne.; Mimoň - rašelinná loučka v nivě Ploučnice, starší údaj, který nebyl potvrzen. Je možné předpokládat, že se tu rostlina objeví.; Lázně Kunderatice - rašelinná olšina, výskyt nebyl potvrzen, jelikož

tam, kde měla být nalezena rašelinná olšina, byla jen pastvina.; Lomnice nad popelkou - jezírko pod kopcem Tábor, novější údaj, který nebyl potvrzen. Lokalita pro výskyt vypadala vhodně.; Sedmihorky - PR Bažantník, výskyt zde nebyl potvrzen. V okolí rybníka bylo několik míst, kde by se mohla *C. dentata* vyskytovat.; Nudvojice - slepé rameno Jizery, starší údaj, který nebyl potvrzen. Lokalita na několika místech byla vhodná pro výskyt.; Žehrov - Horní rybník, novější údaj, který se nepodařilo bohužel potvrdit, je možné výskyt zde očekávat.; Bělá p. Bezdězem – Podolí, nepodařilo se výskyt potvrdit, místo vlhkých luk, tam byly pastviny.; Velký Rečkov - NPP Rečkov, jedná se převážně o podmáčené olšiny, výskyt nebyl potvrzen, je možné výskyt očekávat.; Hradec Králové - potok u rybníka Jáma, výskyt byl potvrzen, lokalita vypadala vhodně. Při březích rostla hojně *C. amara*.; Štěnec - Štěnecký rybník, starší údaj, výskyt zde nebyl potvrzen. Je možné, že se zde bude v budoucnu znovu vyskytovat.; Litomyšl - louky u Osíka, z této lokality pochází vesměs jen staré údaje. Výskyt zde potvrzen nebyl, ale lokalita vypadala pro výskyt vhodně.; Modřec - modřecký rybník, krásná lokalita vhodná pro výskyt, bohužel údaj nebyl potvrzen.; Jedlová - v příkopu a Jedlovské rybníky, jsou to lokality ze starších dokladů, nebyly potvrzeny. U rybníků by mohl být výskyt v budoucnu ověřen.; Rohozná – rybník, výskyt zde nebyl potvrzen. V okolí rybníka bylo několik míst, kde by se mohla *C. dentata* vyskytovat.; Sklené nad Oslavou - rybník Malý Podvesník, jedná se o nový údaj, který nebyl potvrzen, je velice pravděpodobné, že se zde znovu objeví.; Radkov - Pílský rybník a rybník Tvrza, u obou rybníků výskyt nebyl potvrzen. Jsou to vhodné lokality, v budoucnu je možné výskyt očekávat.; Meziboří - Meziborský rybník, lokalita blízka předešlým dvěma. Také se nepotvrdil výskyt.; Horusice - NPR Ruda, nádherné rašeliniště, bohužel se výskyt nepodařilo potvrdit.; Vlkov - u žel. tratě, novější údaj, nepotvrzen, příkop pravděpodobně vyschl, je možnost, že když naprší, objeví se.; Humpolec, rybníček pod budovou Domova důchodců, výskyt nebyl potvrzen, jedná se o rybníček u prostřed města, další výskyt zde nelze předpokládat.; Nové Hrady - Terčino údolí, starý údaj, nepotvrdil se, podél říčky Stropnice je spousta míst, kde by se mohla *C. dentata* znovu objevit.; Přehořov, břeh rybníka za J okrajem obce, jedná se o starší údaj, ale bohužel se ho nepodařilo ověřit.; Tábor, levý břeh Lužnice nedaleko Benešova mlýna Z města, nepodařilo se ověřit, podél Lužnice je dostatek vhodných biotopů pro výskyt *C. dentata*.; Dívčice, u železniční trati při SV okraji Zbudovského rybníka, výskyt zde nebyl potvrzen. V okolí rybníka bylo několik vhodných míst pro výskyt.

Nově nalezené lokality: České Budějovice – výstaviště, jedná se rybníčky uprostřed Českých Budějovic vedle hlavního autobusového nádraží, stabilní populace, výskyt spolu s *C.*

pratensis.; Podhorský rybník, *C. dentata* rostla roztroušeně podél břehu, který vedl pod tratí.; Dívčice - u rybníka Černá, malá populace s velmi vysokými rostlinami.; Krč - u Švarcenberského rybníka, malá populace, rostliny vyrůstaly z bultů ostřic.; Záblatíčko – na břehu vodní nádrže, malá populace, rostly zde spolu s *C. pratensis*. Ze všech nově nalezených lokalit má lokalita v Záblatíčku nejmenší pravděpodobnost udržení se, protože okraj nádrže je pravidelně udržovaný sekáním.

V Karpatské mezofytikum je výskyt *C. dentata* doložen 8 herbářovými položkami z 3 fytogeografických okresů. Jsou to 76a, 81 a 82. Jsou to pouze starší údaje (1986 – 1995). Lokalita: Hustopeče - ve vyschlém rameni Bečvy, nepodařilo se ověřit, avšak lokalita vypadala vhodně pro výskyt.

Oreofytikum

V českém oreofytiku je doložená 7 herbářovými položkami z 2 fytogeografických okresů, jsou to 91 a 94. Jedná o pět starých (1867, 1983, 3x 1990, 1991 a jeden novější údaj (2009). Ani na jedné lokalitě nebyl ověřen výskyt.

Lokality: Zalíbené u Hlinska v Čechách. Bohužel v žádném příkopě v okolí vesnice, který jsme našli, se nevyskytovala *C. dentata*, je možné, že se vrátí, jelikož příkopy byly většinou trvale podmáčené; Ždírec n. Doubravou – rybníčky, kousek od obce, je zde možný výskyt v budoucnu.; Radostín - rybník Doubravník, v okolí rybníka bylo několik vhodných míst pro výskyt.; Vatín – rybníky, jediné co připadalo v úvahu, kde by se mohla v budoucnu vyskytovat, byly podmáčené loučky

5. Závěr

Tato práce shrnuje údaje o rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v České republice, dále se zabývá chromozomovými počty, určením ploidních úrovní a mikrosatelitovými markery, které měly přiblížit potenciální vztah *C. dentata* k ostatním druhům ze skupiny *C. pratensis* agg.

Nejvíce lokalit výskytu se nachází v termofytiku, dále pak mezofytiku a nakonec oreofytiku, což odpovídá i výsledkům rozšíření dle nadmořské výšky. V Čechách je nejvíce zaznamenaných lokalit udáváno z fytogeografické oblasti termofytika, odkud pochází i jedny z nejnovějších nálezů. Na Moravě je nejvíce zaznamenaných lokalit udáváno z fytogeografických oblastí mezofytika, i když zde byl zaznamenán největší úbytek lokalit v průběhu let. To je možná díky snadným záměnám, zejména pokud se vyskytuje spolu s některým druhem z okruhu *C. pratensis* agg. a rychlému úbytku lokalit. Neexistují úplné a přesné údaje z recentních záznamů. A tak lze soudit, že zařazení druhu *C. dentata* do kategorie C3 v červeném seznamu druhů České republiky, je správné.

Na základě průtokové cytometrie a počítání chromozomů byly v případě českých lokalit zjištěny dekaploidní až undekaploidní populace se 74-88 chromozomy což celkově odpovídá údajům Lövkvista a tomu co uvádí Marhold (1994a) z území Karpat.

Data mikrosatelitových markerů *C. dentata* a dalších blízce příbuzných druhů poukazují na skutečnost, že rostliny vyšších ploidních úrovní ze skupiny *C. pratensis*, které byly identifikovány jako *C. dentata*, jsou geneticky odlišné od ostatních druhů této skupiny. Dále bylo odvozeno z výsledků STRUCTURE, že ostatní druhy, které byly spolu zkoumané, mají část genomu společnou s *C. dentata*. Bohužel se ze získaných dat se nedá jednoznačně určit na původ polyploidního druhu *C. dentata*. Jedinou indikací příbuznosti snad může být blízkost vzorků *C. pratensis* na ordinačním diagramu PCoA.

6. Použitá literatura a zdroje

6.1 Literatura

Al-Shehbaz I. A. (1988): The genera of Arabideae (Cruciferae; Brassicaceae) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 69: 85–166.

Banach E. (1950): Cardamine In Skalińska M. Studies in chromosome numbers. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 20: 53–55.

Banach E. (1951): Studies in kariological differentiation of *Cardamine pratensis* L. in connection with ecology. *Bulletin International de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres. Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles. Série B 1. Botanique* (1950): 197–211.

Bennett M. D. & Leitch I. J. (2003): Plant DNA C-values database (release 2.0, January). <http://www.rbgekew.org.uk/cval/homepage.html>.

Bennett M. D. & Leitch I. J. (2005): Plant genome size research: a field in focus. *Annals of Botany* 95: 1–6.

Bleeker W., Franzke A., Pollmann K. & al. (2002): Phylogeny and biogeography of Southern Hemisphere high-mountain *Cardamine* species (Brassicaceae). *Australian Systematic Botany* 15: 575–581.

Boivin K., Acarkan A., Mbulu R.-S. & al. (2004): The *Arabidopsis* genome sequence as a tool for genome analysis in Brassicaceae. A comparison of the *Arabidopsis* and *Capsella rubella* genomes. *Plant Physiology* 135: 735–744.

Braithwaite M. (2003): A crucifer with ‘no flowers to speak of’ - cleistogamy and prolifery in *Cardamine corymbosa* (New Zealand bitter-cress). *Botanical Society of the British Isles News* 92: 14–16.

Bureš P. (1996): *Cardamine dentata* Schult. in Moravia. *cripta facultatis scientiarum naturalium Universitatis Masarykianae Brunensis, Biologia* 24 (1994): 3–9.

Bureš P., Wang Y. F., Horová L. & Suda J. (2004): Genome size variation in Central European species of *Cirsium* (Compositae) and their natural hybrids. *Annals of Botany* 94: 353-363.

Cerbah M., Coulaud J., Brown S. C. & Siljak-Yakovlev S. (1999): Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris*. *Heredity*; 82: 261-266.

Cesca G. & Peruzzi L. (2002): A new species of *Cardamine* subgen. *Dentaria* (Cruciferae), apoenemic in Calabria (Southern Italy). *Plant Biosystems* 136: 313-320.

Davlianidze M. (1980): Numeri chromosomatum nonnularum plantarum Caucasicarum. *Zametki po Sistematike i Geografii Rastanii/Notulae Systematicae ac Geograficae Instituti Botanici Thbilissiensis*; 36: 75-76.

Doležel J. & Bartoš J. (2005): Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany* 95: 99-110.

Doležel J. (1997): Application of flow cytometry for the study of plant genomes. *Journal of Applied Genetics* 38: 285–302.

Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2: 2233–2244.

Doležel J., Sgorbati S. & Lucretti S. (1992): Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 625–631.

Easterly N. W. (1963): Chromosome numbers of some northwestern Ohio Cruciferae. *Castanea* 28: 39-42.

Ehrich D. (2006): AFLPdat: a collection of R functions for convenient handling of AFLP data. *Molecular Ecology Notes* 6: 603–604.

Ehrich D., Gaudeul M., Assefa A., Koch M., Mummenhoff K. & Nemomissa S. (2007): Genetic consequences of Pleistocene range shifts: Contrast between the Arctic, the Alps and the East African mountains. *Molecular Ecology* 16: 2542–2559.

Ellis R. P. & Jones B. M. G. (1969): The origin of *Cardamine flexuosa* with evidence from morphology and geographical distribution. *Watsonia* 78: 92–103.

Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611–2620.

Excoffier L., Smouse P. E. & Quattro J. M. (1992): Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.

Fineschi S., Taurchini D., Grossoni P. & al. (2002): Chloroplast DNA variation of white oaks in Italy. *Forest Ecology and Management* 156: 103–114.

Franzke A. & Hurka H. (2000): Molecular systematics and biogeography of the *Cardamine pratensis* complex (Brassicaceae). *Plant Systematics and Evolution* 224: 213–234.

Franzke A., Pollmann K., Bleeker W. & al. (1998): Molecular systematics of *Cardamine* and allied genera (Brassicaceae): ITS and non-coding chloroplast DNA. *Folia Geobotanica* 33: 225–240.

Frenzel B., Pécsi B. & Velischko A. A. (1992): Atlas of paleoclimates & palaeoenvironments of the Northern Hemisphere. Budapest, Stuttgart: Geographical Research Institute, Hungarian Academy of Sciences, Gustav Fisher.

- Grubbs K. C., Small R. L. & Schilling E. E. (2009): Evidence for multiple, autopoloid origins of agamosperous populations in *Eupatorium sessilifolium* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 279: 151–161.
- Hall A. E, Fiebig A. & Preuss D. (2002): Beyond the Arabidopsis Genome: opportunities for comparative genomics. *Plant Physiology* 129: 1439–1447.
- Hallier F. (1866): Ueber ein neues Schaumkraut in den Sachsen-Sümpfen bei Jena. *Botanische Zeitung* (Berlin) 24: 209–210.
- Hammer Ø., Harper D. A. T. & Ryan P. D. (2001): PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.
- Heenan P. B. (2017): A taxonomic revision of *Cardamine* L. (Brassicaceae) in New Zealand. *Phytotaxa* 330: 1–154.
- Hegi G. (1924): *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*, Bd. IV, Teil 1. 1. Aufl. München S. 333 - 353.
- Hodálová I., Mered'a P., Kučera J., Marhold K., Kempa M., Olšavská K. & Slovák M. (2015): Origin and systematic position of *Jacobaea vulgaris* (Asteraceae) octoploids: genetic and morphological evidence. *Plant Systematics and Evolution* 301: 1517–1541.
- Jaccard P. (1901): Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 37: 547–579.
- Jalas J. & Suominen J. (1994): *Atlas florae Europaeae*, 10. The Committee for mapping the Flora of Europe and Societas Biologica Fennica Vanamo, Helsinki.
- Johnston J. S., Pepper A. E., Hall A. E. & al. (2005): Evolution of genome size in Brassicaceae. *Annals of Botany* 95: 229–235.

Jones B. M. G. & Akeroyd J. (1993) *Cardamine* L. In: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Valentine DH, Walters SM, Webb DA, eds., Flora Europaea, vol. 1, Ed. 2. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 346–351.

Jones B. M. G. (1964): 41. *Cardamine* L. In: Tutin T. G. & al., eds., Flora Europaea Ed. 1, Vol. 1, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 285–289.

Kapuscinsky J. (1995): DAPI: a DNA-specific fluorescent probe. *Biotechnic & Histochemistry* 5: 220–233.

Khatri K. S. (1986): Application of the names *Cardamine acris*, *C. dentata*, *C. scutata* and *C. trifida*. *Feddes Repertorium* 97: 279–283.

Khatri K. S. (1988): Studies in the Caucasian species of *Cardamine* L. (Cruciferae). *Phyton* (Austria); 28: 55–80.

Knaf J. (1846): *Exiguitates botanicae*. *Flora* 29: 289–300.

Koch M. & Kiefer M. (2005): Genome evolution among cruciferous plants - a lecture from the comparison of the genetic maps of three diploid species: *Capsella rubella*, *Arabidopsis lyrata* ssp. *petraea* and *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany* 92: 761–767.

Koch M. (2003): Molecular phylogenetics, evolution and population biology in Brassicaceae. In: Sharma A. K. & Sharma A., eds., *Plant genome, biodiversity and evolution* 1A: 1–35. Enfield, New Hampshire: Science Publishers .

Koch M., Haubold B. & Mitchell-Olds T. (2001): Molecular systematics of the Brassicaceae: evidence from coding plastidic matK and nuclear CHS sequences. *American Journal of Botany* 88: 534–544.

Kučera J. & Marhold K. (2006): New records on the occurrence, distribution and chromosome numbers of *Cardamine amara* and the *C. pratensis* group in Croatia. *Phyton* (Horn) 46: 99–111.

Kuittinen H., de Haan A. A., Vogl C. & al. (2004): Comparing the linkage maps of the close relatives *Arabidopsis lyrata* and *A. thaliana*. *Genetics* 168: 1575–1584.

Lawrence W. J. C. (1931): The chromosome constitution of *Cardamine pratensis* and *Verbascum phoeniceum*. *Genetica*; 13: 183–208.

Levin D. A. (2002): The role of chromosomal change in plant evolution. New York: Oxford University Press.

Lihová J. & Marhold K. (2003): Taxonomy and distribution of the *Cardamine pratensis* group (Brassicaceae) in Slovenia. *Phyton* (Horn, Austria) 43: 241–261.

Lihová J. & Marhold K. (2006): Phylogenetic and diversity patterns in *Cardamine* (Brassicaceae) – a genus with conspicuous polyploid and reticulate evolution. In: Sharma A. K., Sharma A. (eds.) *Plant genome: biodiversity and evolution*, vol. 1C: Phanerogams (Angiosperms – Dicotyledons). – Science Publishers, Inc., Enfield, pp. 149–186.

Lihová J., Fuertes Aguilar J., Marhold K. & Nieto Feliner G. (2004a): Origin of the disjunct tetraploid *Cardamine amporitana* (Brassicaceae) assessed with nuclear and chloroplast DNA sequence data. *American Journal of Botany* 91: 1231–1242.

Lihová J., Fuertes Aguilar J., Marhold K. & Nieto Feliner G. (2004): Origin of the disjunct tetraploid *Cardamine amporitana* (Brassicaceae) assessed with nuclear and chloroplast DNA sequence data. *American Journal of Botany* 91: 1231–1242.

Lihová J., Marhold K. & Neuffer B. (2000): Taxonomy of *Cardamine amara* (Brassicaceae) in the Iberian Peninsula. *Taxon* 49: 747–763.

Lihová J., Marhold K., Tribsch A. & Stuessy T. F. (2004b): Morphometric and AFLP re-evaluation of tetraploid *Cardamine amara* (Brassicaceae) in the Mediterranean. *Systematic Botany* 29: 134–146.

Lihová J., Tribsch A. & Marhold K. (2003): The *Cardamine pratensis* (Brassicaceae) group in the Iberian Peninsula: taxonomy, polyploidy and distribution. *Taxon* 52: 783–802.

Lihová J., Tribsch A. & Stuessy T. F. (2004): *Cardamine apennina*: a new endemic diploid species of the *C. pratensis* group (Brassicaceae) from Italy. *Plant Systematics and Evolution*; 245: 69–92.

Lövkvist B. (1956): The *Cardamine pratensis* complex. Outline of its cytogenetics and taxonomy. *Symbolae Botanicae Upsalienses* 14/2: 1–131.

Lövkvist B. (1957): Experimental studies in *Cardamine amara*. *Botaniska Notiser* 110: 423–441.

Lövkvist B. (1958): *Cardamine pratensis* och *Cardamine palustris* på Gotland [Cardamine pratensis and Cardamine palustris in Gotland]. *Botaniska Notiser* 111: 179–194.

Lysak M. A., Koch M., Pecinka A. & Schubert I. (2005): Chromosome triplication found across the tribe Brassiceae. *Genome Research* 15: 516–525.

Lysak M. A., Pecinka A. & Schubert I. (2003): Recent progress in chromosome painting of *Arabidopsis* and related species. *Chromosome Research* 11: 195–204.

Mandáková T., Kovařík A., Zozomová-Lihová J., Shimizu-Inatsugi R., Shimizu K. K., Mummenhoff K., Marhold K. & Lysak M. A., (2013): The more the merrier: Recent hybridization and polyploidy in Cardamine. *Plant Cell* 25: 3280–3295.

Mandáková T., Marhold K. & Lysak M. A., (2014): The widespread crucifer species *Cardamine flexuosa* is an allotetraploid with a conserved subgenomic structure. *New Phytologist* 201: 982–992.

Manton I. (1932): Introduction to the general cytology of the Cruciferae. *Annals of Botany* 46: 509–556.

Marhold K. & Ančev M. E. (1999): *Cardamine penzesii*, a rediscovered taxon of the *Cardamine pratensis* group (Cruciferae). *Annales Botanici Fennici* 36: 171–180.

Marhold K. & Záborský J. (1986): A new species of *Cardamine pratensis* agg. from Eastern Slovakia. *Preslia* 58: 193–198.

Marhold K. (1984): Karyotaxonomické poznámky k *Cardamine pratensis* agg. na Slovensku [Karyotaxonomical notes on *Cardamine pratensis* agg. in Slovakia]. *Biológia (Bratislava)* 39: 905–909.

Marhold K. (1994a): Chromosome numbers of the genus *Cardamine* L. (Cruciferae) in the Carpathians and in Pannonia. *Phyton (Horn, Austria)* 34: 19–34.

Marhold K. (1994b): Taxonomy of the genus *Cardamine* L. (Cruciferae) in the Carpathians and Pannonia. I. *Cardamine pratensis* group. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica* 29: 335–374.

Marhold K. (1999): Taxonomic evaluation of the tetraploid populations of *Cardamine amara* (Brassicaceae) from the Eastern Alps and adjacent areas. *Botanica Helvetica* 109: 67–84.

Marhold K. (2000): Chromosome numbers of the *Cardamine pratensis* group in Austria with taxonomic remarks. *Florae Austriae Novitates* 6: 1–5.

Marhold K., Huthmann M. & Hurka H. (2002): Evolutionary history of the polyploid complex of *Cardamine amara* (Brassicaceae): isozyme evidence. *Plant Systematics and Evolution* 233: 15–28.

- Marhold K., Kudoh H., Pak J.-H., Watanabe K., Španiel S. & Lihová J. (2010): Cytotype diversity and genome size variation in eastern Asian polyploid *Cardamine* (Brassicaceae) species. *Annals of Botany* 105: 249–264.
- Marhold K., Perný M. & Kolník M. (2003): Miscellaneous validations in Cruciferae and Crassulaceae. *Willdenowia* 33: 69–70.
- Mitchell A. D. & Heenan P. B. (2000): Systematic relationships of New Zealand endemic Brassicaceae inferred from nrDNA ITS sequence data. *Systematic Botany* 25: 98–105.
- Montgomery F. H. (1955): Preliminary studies in the genus *Dentaria* in eastern North America. *Rhodora* 57: 161–173.
- Mráz P., Šingliarová B., Urfus T. & Krahulec F., (2008): Cytogeography of *Pilosella officinarum* (Compositae): altitudinal and longitudinal differences in ploidy level distribution in the Czech Republic and Slovakia and the general pattern in Europe. *Annals of Botany* 101: 59–71.
- Murín A. (1960): Substitution of cellophane for glass covers to facilitate preparation of permanent squashes and smears. *Stain Technology* 35: 351–353.
- Neuffer B. & Jahncke P. (1997): RAPD analyses of hybridization events in *Cardamine* (Brassicaceae). *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica* 32: 57–67.
- Nordborg M., Hu T. T., Ishino Y., Jhaveri J., Toomajian C., Zheng H., Bakker E., Calabrese P., Gladstone J., Goyal R., Jakobsson M., Kim S., Morozov Y., Padhukasahasram B., Plagnol V., Rosenberg N. A., Shah C., Wall J. D., Wang J., Zhao K., Kalbfleisch T., Schulz V., Kreitman M. & Bergelson J. (2005): The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Biology* 3: 1289–1299.

Palmé A. E. & Vendramin G. G. (2002): Chloroplast DNA variation, postglacial recolonization and hybridization in hazel, *Corylus avellana*. *Molecular Ecology* 11: 1769–1779.

Perný M., Tribsch A., Stuessy T. F. & Marhold K. (2005): Allopolyploid origin of *Cardamine silana* (Brassicaceae) from Calabria (Southern Italy): karyological, morphological and molecular evidence. *Botanical Journal of the Linnean Society* 148: 101–116.

Petermann W. L. (1946): Ueber zwei neue Species der deutschen Flora. *Botanische Centralblatt Deutschlands* 1: 45–48.

Pritchard G. G. (1957): Experimental taxonomic studies on species of *Cardamine* Linn. in New Zealand. *Transactions of the Royal Society of New Zealand* 85: 75–89.

Pritchard J. K., Stephens M. & Donnelly P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.

Richardson B. A., Page J. T., Bajgain P., Sanderson S. C. & Udall J. A. (2012): Deep sequencing of amplicons reveals widespread intraspecific hybridization and multiple origins of polyploidy in big sagebrush (*Artemisia tridentata*; Asteraceae). *American Journal of Botany* 99: 1962–1975.

Rohweder H. (1937): Versuch zur Erfassung der mengenmäßigen Bedeckung des Darß und Zingst mit polyploiden Pflanzen. *Planta* 27: 500–549.

Rollins R. C. ed. (1993): *The Cruciferae of Continental North America*. Stanford: Stanford University Press.

Rosenberg N. A. (2004): Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4: 137–138.

Saitou N. & Nei M. (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406–425

Salisbury E. (1965): The reproduction of *Cardamine pratensis* L. and *Cardamine palustris* Peterman particularly in relation to their specialized foliar vivipary, and its deflexion of the constraints of natural selection. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* 163: 321–342.

Schlüter P. M. & Harris S. A. (2006): Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data. *Molecular Ecology Notes*: 6: 569–572.

Schönswetter P., Suda J., Popp M., Weiss-Schneeweiss H. & Brochmann C. (2007): Circumpolar phylogeography of *Juncus biglumis* (Juncaceae) inferred from AFLP fingerprints, cpDNA sequences, nuclear DNA content and chromosome numbers. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 92–103.

Schuelke M. (2000): An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 233–234.

Schultes J. A. (1809): *Observationes botanicae*. Oeniponti

Schulz O. E. (1903): Monographie der Gattung *Cardamine*. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*; 32: 280–623.

Schwarzenbach F. (1922): Untersuchungen über die Sterilität von *Cardamine bulbifera* (L.) Crantz. *Flora* 115: 393–514.

Soltis D. E., Soltis P. S. & Tate J. A. (2004): Advances in the study of polyploidy since Plant speciation. *New Phytologist* 161: 173–191.

Spooner D. M. (1984): Reproductive features of *Dentaria laciniata* and *D. diphylla* (Cruciferae), and the implications in the taxonomy of the eastern North American *Dentaria* complex. *American Journal of Botany* 71: 999–1005.

Suda J. (2005): Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. *Živa* 1: 46-48.

Sweeney P. W. & Price R. A. (2001): A Multivariate morphological analysis of the *Cardamine concatenata* alliance (Brassicaceae). *Brittonia* 53: 82–95.

Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A. G. & Cosson J. F. (1998): Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* 7: 453–464.

Tomšovic P. (2003): *Cardamine pratensis* agg. In: Slavík B. & Hejný S. (red.), *Květena České republiky* 3: 93–98, Academia, Praha.

Urbanska-Worytkiewicz K. & Landolt E. (1974a): Biosystematic investigations in *Cardamine pratensis* L. s.l. I. Diploid taxa from Central Europe and their fertility relationships. *Berichte des Geobotanischen Instituts der ETH Stiftung Rübel* 42: 42–139.

Urbanska-Worytkiewicz K. & Landolt E. (1974b): Remarques sur l'aneuploidie chez *Cardamine pratensis* L. s.l. *Berichte des Geobotanischen Instituts der ETH Stiftung Rübel*; 42: 31–41.

Urbanska-Worytkiewicz K. & Landolt, E. (1972): Natürliche Bastarde zwischen *Cardamine amara* L. und *C. rivularis* Schur aus den Schweizer Alpen. *Berichte des Geobotanischen Instituts der ETH Stiftung Rübel* 41: 88–101.

Urbanska-Worytkiewicz K. (1977): Reproduction in natural triploid hybrids ($2n = 24$) between *Cardamine rivularis* Schur and *C. amara* L. *Berichte des Geobotanischen Instituts der ETH Stiftung Rübel* 44: 42–85.

Webb C. J., Sykes W. R. & Garnock-Jones P. J., eds. (1988): Flora of New Zealand 4. Christchurch: Botany Division, D.S.I. R.

Wójcicki J. J. & Marhold K. (2000): *Cardamine dentata* (Brassicaceae) in Poland. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 45: 431–443.

Zozomová-Lihová J., Krak K., Mandáková T., Shimizu K. K., Španiel S., Vít P. & Lysak, M. A. (2014): Multiple hybridization events in *Cardamine* (Brassicaceae) during the last 150 years: revisiting a textbook example of neoallopolyploidy. *Annals of Botany* 113: 817–830.

6.2 Elektronické zdroje

Adams JM. Global land environments since the last interglacial. <http://www.esd.ornl.gov/ern/qen/nerc.html>. Oak Ridge National Laboratory.

<http://www.cardamine.sav.sk>

<http://quick.florabase.cz/map/show/taxon/Cardamine%20dentata/>

http://ndop.nature.cz/output/aopk_nd_a_aplikace.nature.cz11951-133892619211212.png

https://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Z0005/18118868/index_book_5-3.html

7. Přílohy

7.1 Chromozomové počty

Tabulka 9: Literární údaje o počtech chromozómů *Cardamine dentata*

Determinace podle databáze	Počet chromozomů	Stát	Počet lokalit	Počítal	Publikoval	Rok
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 52	Švédsko	6	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 52 - 54	Temperátní Ásie	5	Sokolovskaya A. P., Strelkova O. S.	Sokolovskaya A. P., Strelkova O. S.	1962
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 54	Švédsko	6	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 54	Dánsko	5	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 55	Dánsko	2	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 55	Švédsko	7	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Švédsko	54	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Dánsko	9	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Finsko	2	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Velká Británie	6	Lökvist B.	Lökvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Švédsko	3	Lökvist B.	Lökvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Velká Británie	1	Lökvist B.	Lökvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Finsko	1	Lökvist B.	Lökvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Švédsko	9	Lökvist B.	Lökvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Německo	1	Lippert W., Heubl G. R.	Lippert W., Heubl G. R.	1988
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Německo	4	Bleeker W.	Bleeker W.	1997
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56	Dánsko	6	Lökvist B.	Lökvist B.	1999
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 56?	Švédsko	3	Lökvist B.	Lökvist B.	1958

<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 57	Velká Británie	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 57	Dánsko	6	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 57	Švédsko	7	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 58	Švédsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 58	Dánsko	7	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 58	Velká Británie	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 58	Švédsko	9	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 58	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 59	Dánsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 59	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 59	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 60	Švédsko	54	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 60	Dánsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 60	Finsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 60	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 60 - 76	Švýcarsko	1	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	Urbanska-Worytkiewicz K., Landolt E.	1971
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 61	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 61	Dánsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 61	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 62	Švédsko	11	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 62	Finsko	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 62	Dánsko	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 62	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 63	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine</i>	2n = 64	Švédsko	54	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956

<i>dentata</i> Schult.						
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Finsko	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Dánsko	10	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Švédsko	8	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Švédsko	8	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Belgie	1	Lambinon J., Moutschen J.	Lambinon J., Moutschen J.	1964
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Slovensko	3	Murín A., Feráková V.	Murín A., Feráková V.	1976
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Slovensko	2	Marhold K.	Marhold K.	1984
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64	Německo	6	Bleeker W.	Bleeker W.	1997
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64?	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 64 - 66	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 65	Dánsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 65	Švédsko	6	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 66	Dánsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 66	Švédsko	18	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 67	Švédsko	6	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 67	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Polsko	1	Banach E.	Banach E.	1950
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Dánsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Finsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Švédsko	30	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Skandinávie	/	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 68	Rusko	1	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine</i>	2n = 69	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal	Berg C. C., Segal S.	1966

<i>dentata</i> Schult.				S.		
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 70	Dánsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 70	Švédsko	25	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 70	Švédsko	4	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 70	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 71	Švédsko	14	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Rusko	/	Senyaninova-Korchagina M. V.	Senyaninova-Korchagina M. V.	1926
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Rusko	/	Senyaninova-Korchagina M. V.	Senyaninova-Korchagina M. V.	1939
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Polsko	3	Banach E.	Banach E.	1950
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Irsko	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Dánsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Švédsko	54	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Skandinávie	/	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Švédsko	19	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Ukraina	1	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72	Rusko	11	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 72?	Švédsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 73	Dánsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 73	Švédsko	10	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 73	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 74	Dánsko	4	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 74	Švédsko	10	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 74	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine</i>	2n = 75	Dánsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956

<i>dentata</i> Schult.						
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 75	Švédsko	11	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 75	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Polsko	4	Banach E.	Banach E.	1950
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Dánsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Finsko	1	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Švédsko	41	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Skandinávie	/	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Švédsko	6	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = (76)	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = (76)	Dánsko	5	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 76	Rusko	2	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 77	Švédsko	9	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 78	Polsko	5	Banach E.	Banach E.	1950
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 78	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 78	Rusko	4	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Švédsko	11	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Skandinávie	/	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Švédsko	4	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Rusko	11	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Kanada	1	Löve Á, Löve D.	Löve Á, Löve D.	1982
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Ukraina	1	Marhold K.	Marhold K.	1994
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 80	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1999
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 84	Dánsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine</i>	2n = 84	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956

<i>dentata</i> Schult.						
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 84	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 84	Rusko	2	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 88	Švédsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 88	Rusko	2	Spasskaya N. A.	Spasskaya N. A.	1979
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 90	Švédsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = 90	Švédsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 72	Německo	1	Bleeker W.	Bleeker W.	1997
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 80	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 80	Slovensko	1	Marhold K.	Marhold K.	1984
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 80	Bělorusko	1	Parfenov V. I., Dmitrieva S. A.	Parfenov V. I., Dmitrieva S. A.	1987
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 80	Německo	2	Bleeker W.	Bleeker W.	1997
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 90	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 96	Švédsko	3	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1956
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 96	Skandinávie	/	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1957
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 96	Švédsko	2	Lövkvist B.	Lövkvist B.	1958
<i>Cardamine dentata</i> Schult.	2n = ca. 118	Nizozemsko	/	Berg C. C., Segal S.	Berg C. C., Segal S.	1966

7.2 Seznam navštívených lokalit

Tabulka 10: Seznam navštívených lokalit, červeně jsou značené populace s výskytem *C. dentata*.

Lokalita	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka
Chřibská - louka u kostela	50°51'52.848"	14°28'55.452"
Chřibská - Marschnerova louka	50°52'32.952"	14°28'29.388"
Nakléřov - mokré louky k Libouchci	50°45'4.788"	14°0'37.728"
Babiny I - vlhké louky	50°35'54.168"	14°7'35.472"
Litoměřice - louky u Labe pod plynárnou	50°31'53.148"	14°9'0.144"
České Kopisty - mokřad p. Terezínskou pevností	50°31'1.668"	14°9'45.900"
Kostelec n. Ohří - PR Myslívna	50°23'47.724"	14°4'58.512"
Ostrov - PR Ostrovské rybníky	50°17'50.424"	12°55'4.908"

Čelechovice - rybníček Konopas	50°9'41.400"	13°56'36.096"
Kamenné Žehrovice - Zápavy	50°8'26.160"	14°1'5.232"
Kamenné Žehrovice - rybníček	50°8'41.748"	14°0'49.644"
Zahrádky u ČL - olšina u Novozámeckého rybníka	50°37'41.628"	14°33'15.804"
Mimoň - rašelinná loučka v nivě Ploučnice	50°40'16.572"	14°44'3.444"
Postřelná - potůček v olšině	50°44'18.636"	14°46'23.412"
Lázně - Kundratice - rašelinná olšina	50°41'27.960"	14°54'35.028"
Lomnice nad popelkou - jezírko pod kopcem Tábor	50°30'23.148"	15°21'9.720"
Sedmihorky - PR Bažantník	50°33'27.000"	15°11'25.116"
Nudvojice - slepé rameno Jizery	50°34'43.536"	15°7'25.032"
Žehrov - Horní rybník	50°31'56.280"	15°5'31.632"
Bělá p. Bezdězem - Podolí	50°29'58.416"	14°48'27.648"
Velký Rečkov - NPP Rečkov	50°29'51.324"	14°54'18.648"
Mladá Boleslav - Zvířetice	50°28'29.532"	14°54'47.088"
Hledsebe - olšiny u Pšovky	50°22'9.192"	14°33'14.724"
Benátky n. Jizerou - Kbely - tůň	50°17'37.788"	14°50'31.848"
Loučeň - dno rybníka za Novým rybníkem	50°18'1.080"	15°0'56.628"
Dušníky n. Vltavou - Černá tůň	50°18'8.892"	14°20'3.696"
Lobeček - tůň	50°15'1.476"	14°18'15.876"
Červená píska - Městský les	50°17'33.828"	14°31'57.000"
Tuháň - tůň v Městském lese	50°17'2.940"	14°31'44.976"
Dřísy - V Rákosí	50°15'19.368"	14°38'25.728"
Praha - Klánovice	50°5'8.412"	14°38'26.664"
Čelákovice - Grádo	50°10'24.348"	14°45'6.480"
Byšičky - mokrá louka	50°10'34.752"	14°47'17.484"
Byšičky - PR Hrbáčkovy tůně	50°10'41.160"	14°47'39.444"
Lysá n. Labem - pískovna u Řehákovy boudy	50°10'40.368"	14°48'28.872"
Semice - tůň - u výpustě	50°10'9.120"	14°51'56.664"
Semice - tůň - rákosiny	50°10'14.448"	14°52'15.672"
Ostrá - tůň v Mydlovarském luhu	50°10'13.368"	14°54'28.080"
Kostomlaty - u zdymadla	50°10'21.000"	14°56'54.996"
Kluk - rybníček	50°7'51.312"	15°6'30.816"
Oseček - slepé rameno Labe	50°7'26.832"	15°8'38.868"
Velký Osek - osecká louka	50°6'31.644"	15°11'12.768"
Libický luh - Havrany	50°6'18.180"	15°11'15.216"
Libický luh - za Máčidlem	50°5'58.776"	15°10'50.052"
Velký Osek - koryto Bačovky	50°5'54.420"	15°11'31.308"
Sány - dávný meandr Cydliny	50°7'9.012"	15°13'32.268"
Opolánky - vodní příkop	50°7'58.620"	15°14'15.684"
Žehuňský rybník	50°8'33.900"	15°17'24.000"
Louky u rybníka Proudnice	50°7'7.716"N	15°24'12.636"
Újezd u Přelouče - jezera Štít	50°6'34.848"	15°27'30.420"
Lhota p. Přeloučí - PP Labe Votoka	50°2'9.492"	15°30'40.140"
Záboří n. Labem - PR Na hornické	50°1'16.284"	15°19'56.172"
Veltruby - tůň ve Veltrubském luhu	50°4'19.128"	15°10'10.668"

Žabonosy - břeh rybníku Rozkoš	50°2'19.428"	15°1'41.124"
Malšova Lhota - tůně u Stříbrného rybníka	50°12'30.060"	15°53'19.680"
Hradec Králové - potok u rybníka Jáma	50°11'7.692"	15°51'33.372"
Štěnec - Štěnecký rybník	49°55'34.896"	16°3'16.668"
Litomyšl - louky u Osíka	49°50'52.584"	16°16'54.228"
Modřec - modřecký rybník	49°41'30.228"	16°17'49.848"
Jedlová - v příkopu	49°39'37.836"	16°18'52.884"
Jedlovské rybníky	49°39'35.640"	16°19'57.144"
Rohozná - rybník	49°38'48.624"	16°24'38.340"
Zalíbené u Hlinska v Čechách	49°42'40.968"	15°54'14.688"
Ždírec n. Doubravou - rybníčky	49°42'1.008"	15°49'54.516"
Radostín - rybník Doubravník	49°38'56.220"	15°51'3.096"
Vatín - rybníky	49°31'57.000"	15°56'43.620"
Sklené nad Oslavou - rybník Malý Podvesník	49°26'29.220"	16°3'12.960"
Radkov - Pilský rybník	49°25'7.536"	16°9'43.344"
Radkov - rybník Tvrza	49°25'17.976"	16°9'36.252"
Meziboří - Meziborský rybník	49°24'24.192"	16°13'10.668"
České Budějovice - výstaviště	48°58'53.868"	14°27'33.012"
Podhorský rybník	49°10'29.460"	14°18'21.888"
Horusice - NPR Ruda	49°8'54.096"	14°41'22.452"
Vlkov - u žel. tratě	49°9'5.004"	14°43'35.328"
Dívčice - u rybníka Černá	49°6'27.576"	14°18'29.088"
Krč - u Švarcenberského rybníka	49°12'15.588"	14°14'48.768"
Záblatíčko - na břehu vodní nádrže	49°7'36.372"	14°16'19.992"
Dolní Věstonice - Horní luh	48°55'25.968"	16°34'32.376"
Brno - louky u Vranovic	48°57'18.288"	16°36'35.208"
Hustopeče - ve vyschlém rameni Bečvy	48°55'50.808"	16°44'56.076"
Strachtín - okraj lužního lesa	48°54'7.452"	16°38'57.876"
Lanžhotské louky	48°42'13.932"	16°57'34.020"
Lanžhot - obora Soutok - Pláky	48°39'9.504"	16°55'16.824"
Humpolec, rybníček pod budovou Domova důchodců	49°32'13.052"	15°21'22.705"
Nové Hrady, Terčino údolí	48°46'58.297"	14°45'50.577"
Přehořov, břeh rybníka za J okrajem obce	49°14'38.591"	14°45'28.021"
Tábor, levý břeh Lužnice nedaleko Benešova mlýna Z města	49°24'42.205"	14°38'0.142"
Dívčice, u železniční trati při SV okraji Zbudovského rybníka	49°5'56.593"	14°18'10.610"

7.3 Revidované lokality

Tabulka 11: Revidované lokality *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1836 – 1900

Datum sběru	Scheda	Sběratel	Herbář
1836-05-17	u strouhy sev. od můstku, Lysá nad Labem	F. Kvapík	OLM
1843-05-16	u strouhy sev. od můstku, Lysá nad Labem	F. Kvapík	OLM
1843-05-16	u strouhy sev. od můstku, Lysá nad Labem	F. Kvapík	OLM
1863-05	Adamsthal bei Brunn	Carl Theimer	BRNU
1867-7	Flora bohemia: Broumo vsko: u Janovic	Emil Hadač	PR

1884-05	MI. Boleslav: Zvířetice	Josef Podpěra	BRNU
1887-05-15	u Kostomlat (u Nymburk a) rostla velmi hojně podle vod, tůní, potoků	Velenovský	PRC
1895-05-18	N. Benátky: tůň jizerské u Kbel	Josef Podpěra	BRNU
1895-05-18	MI. Boleslav: tůň jizerské u Kbel	Josef Podpěra	BRNU
1896-06	Bohemia centralis: In tu rfofis pr. Dřísy	Josef Podpěra	BRNU
1897-05-10	Flora Bohemica: In paludosis ad Podolí pr. Urbem Bělá	Josef Podpěra	BRNU
1899-05	Potok Vrutický u Lysé	Josef Židlický	ROZ
1899-05	Flora Bohemica: In paludosis pr. Albim fluvium pr. Semice	Josef Podpěra	BRNU

Tabulka 12: Revidované lokality *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1901 – 1925

Datum sběru	Scheda	Sběratel	Herbář
1902-05-05	Louka mezi Velemínem a Semicí	Karel Domin	PRC
1902-05-14	Bohemia Orient. Litomys lia.: In paludosis ad stagnum prope pagum Osík	Bohumil Fleischer	BRNU
1902-05-28	In paludosi ad stagnum. prope pagum Osík	Bohumil Fleicher	PRC
1902-05-28	In paludosi ad stagnum. prope pagum Osík	Bohumil Fleicher	PRC
1902-05-28	Bohemia Orient. Litomys lia.: In paludosis ad stagnum prope pagum Osík	Bohumil Fleischer	BRNU
1904-05-18	kraj rybníka "Baraku" u Třebíče, Morava	Richard Picbauer	BRNU
1905-05-15	Moravia: Olomouc, hradební stinný příkop, před trestnicí	František Čouka	BRNU
1905-05-21	Moravia: Vrbátky pr. Prostějov	František Čouka	BRNU
1908-05-28	u rybníka Osického nad Litomyšlem	Josef Obrdžálek	PRC
1908-05	Moravia: sumpě b. Olmütz	Heinrich Laus	BRNU
1908-05-28	v bahně Osického rybníka u Litomyšle	Josef Obrdžálek	PRC
1908-06	Flora Moravica: Wrbatek	Heinrich Laus	BRNU
1909-05-20	u rybníka Osického nad Litomyšlem	Josef Obrdžálek	PRC
1912-05-16	u rybníka Osického nad Litomyšlem	Josef Obrdžálek	PRC
1912-05-28	Flora Bohemiae Orint.: In stagnum ad Osík prope Lytomysliam urbem	Josef Obrdžálek	BRNU
1920-05	Olomouc: Černovířský les	Josef Otruba	BRNU
1921-05	Flora Moravica Meridionalis: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-01	Flora Moravica: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-01	Flora Moravica: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-01	Flora Moravica: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-01	Flora Moravica: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-01	Flora Moravica: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-01	Flora Moravica: Brno: Louky u Vranovic	Josef Podpěra	BRNU
1921-05-08	Flora Moravica: Brno - pratum paludosum, Troubsko	Richard Picbauer	BRNU
1921-06-10	v břehu rybníka u Osíka v údolí	Josef Obrdžálek	PRC
1922-05	Flora Moravica: Kroměříž louky u zámečku	František Polášek	BRNU
1923-06-06	Kersko, louky	J. Klička	PRC
1924-07-03	Na vlhké louce u Falknova nad Ohří	Josef Rohlena	PRC
1924-07-03	Na vlhké louce u Falknova nad Ohří	Josef Rohlena	PRC
1924-07-03	Na vlhké louce u Falknova nad Ohří	Josef Rohlena	PRC
1925-05-10	Hustopeče: in paludibus inundatis secundum Dyje fluvium ad pagum Dolní Věstonice	F. Jirásek, G. Širjaev	PRC
1925-05-10	Hustopeče: in paludibus inundatis secundum Dyje fluvium ad pagum Dolní Věstonice	F. Jirásek, G. Širjaev	PRC
1925-05-10	Moravia merid.: Hustopeče: in paludibus inundatis secundum Dyje Fluvium ad pagum Dolní Věstonice	F. Jirásek, G. Širjajev	OLM
1925-05-10	Moravia merid.: Hustopeče: in paludibus inundatis secundum Dyje Fluvium ad pagum Dolní Věstonice	F. Jirásek, G. Širjajev	OLM

1925-05-10	Moravia merid.: Hustopeče: in paludibus inundatis secundum Dyje Fluvium ad pagum Dolní Věstonice	F. Jirásek, G Širjaev	OLM
1925-05-10	Flora Exiccata Republicae Bohemicae Slovenicae. Moravia Merid.: Hustopeče: In paludibus inundatis secundum Dyje fluvium ad pagum Dolní Věstonice	František Jirásek; Grigorij Ivanovič Širjaev	BRNU
1925-05-10	in paludibus inundatis secundum Dyje fluvium ad pagum Dolní Věstonice	F. Jirásek, G. Širjaev	BRNM

Tabulka 13: Revidované lokality *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1926 – 1950

Datum sběru	Scheda	Sběratel	Herbář
1928-05	Flora Moravica: Boskovice: Na lukách u Hrádkova	Richard Doležal	BRNU
1928-05-27	Chlumeck nad Cidl.	J. Pačes	ROZ
1930-05-30	Bohemia centr.: in locis paludosis in Hrabanov ad opp. Lysá nad Labem	Josef Dostál	PRC
1937-05-13	Sev. Morava: kraj rybníka u továrny Schaeferovy, Záhořek	Eduard Hejný	PRC
1937-05-13	distr. Zábřeh: ad ripam piscinae prope manufacturum "Scheffler" in oppido Zábřeh	E. Hejný	PRC
1939-05-16	Lípa, okres Rychnov n. Kněžnou, Bažina v háji na pravém břehu mlýn. Náhonu pod Chlumem	Alois Souček	PRC
1939-05-16	v Lípě nad Orlicí u Týniště n. Orlicí, v mokřině v olšině při trati	Alois Souček	PRC
1939-05-16	Čechy: V mokřině v olšině u trati v Lípě u Týniště nad Orl. (malá skupinka přímo v louži)	Alois Louček	BRNM
1939-05-18	Chotiv, okr. Rychnov nad Kněžnou, v močále	Alois Souček	PRC
1939-05-25	Skála, u Kachličky	Franciscus Knor	PRC
1939-05-27	in prato turfoso /černava/ prope divortium viarum ferrearum situ merid. A vico Všetaty	Václav Jirásek	PRC
1940-05-19	Čechy východní - Hořice: na vlhké louce pod lesem Kazatelnicí	Šourek, Sadová	PRC
1942-05-26	Udolí k Tetčicím, Bobrava, vlhké louky	C. Drimlová	PRC
1942-05-30	Bohemia merid.; distr. Protivín, ripae piscinae Rabínka apago Bečelov prope Protivín	S. Hejný	PRC
1942-05-30	Bohemia merid., distr. Protivín, ripae piscinae Rabínka apago Bečelov prope Protivín	S. Hejný	PRC
1944-06-05	Petrovice u Týniště	J. Novotný	BRNM
1947-04-30	Flora Moravica: Uherský ostroh, Singulární les	Josef Podpěra	BRNU
1948-05-01	Bakov - baž. Potok	Kneblová	PRC
1949-05-09	Bakov n./J.: Malá Bělá (potok)	Kneblová	PRC

Tabulka 14: Revidované lokality *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1951 – 1975

Datum sběru	Scheda	Sběratel	Herbář
1963-05-28	U rybníka Jáma Nový Hradec Králové, na potoce, zřídka.	Josef Šachl	ROZ
1964-04-18	Flora Moravica: Lanžhotské louky	Štěpán Husák	BRNU
1964-04-18	Flora Moravica: Lanžhotské louky	Štěpán Husák	BRNU
1964-05-13	Litoměřice - louka u Labe pod plynárnou	Karel Kubát	LIT
1965-05-10	Vodní příkop u Opolánek, u silnice, málo.	Josef Šachl	ROZ
1966-05-06	Mladé Bříště, mokřý silniční příkop V od obce	Čábera A.	CB
1966-06	Flora Moravica: Moravia boreal.: distr. Olomouc: In pratis humidis ad pag. Hejčín, cca 220 m n. m.	Josef. Dostál	PR
1966-06	Flora Moravica: Moravia boreal.: distr. Olomouc: In pratis humidis ad	Josef. Dostál	PR

	pag. Hejčín, cca 220 m n. m.		
1967-05-03	Moravia austr. - Distr. Břeclav: Strachotín, okraj lužního lesa za vsí při silnici do Dolních Věstonic	Lubomír Hrouda	LIM
1967-05-23	Humpolec, rybníček pod budovou Domova důchodců	Čábera A.	CB
1967-05-06	Ruda u Horusic, u veselí n. Lužnici	Josef Šachl	ROZ
1968-04-30	Flora bohemiae septentrionalis: Ltm: pravý břeh Labe pod plynárnou	Josef Jedlička	LIT
1968-05-10	Nové Hrady, Terčino údolí	Kurka R.	CB
1970-05-14	Na rašelině v Lázní Velichovkách u Jaroměře	Rudolf Traxler	PRC
1970-05-14	Na rašelině v Lázní Velichovkách u Jaroměře	Rudolf Traxler	PRC
1971-05-15	Sev. Čechy: Ralská pahorkatina, rašelinná olšina u Lázní Kundratice (v tůňce)	Alois Čvančara	LIM
1973-05-20	Sev. Čechy: Ralská pahorkatina, Mimoň, rašelinná ločka v nivě Ploučnice SZ od obce Vranov	Alois Čvančara	LIM
1973-05-27	Flora bohemiae septentrionalis: Babiny I: S svah hřbetu Z Kóty 66, vlhké louky s hojným Trollius	Karel Kubát	LIT
1974-05-12	Pravý břeh Labe v Poděbradech	H. Nováková	ROZ
1974-05-12	Pravý břeh Labe č. 68, tj. asi 1 km od Poděbrad proti proudu řeky	H. Nováková	PRC
1975-05-19	Flora bohemiae septentrionalis: Libochovice: SPR Myslívna, roztr.	Karel Kubát	LIT

Tabulka 15: Revidované lokality *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1976 – 2000

Datum sběru	Scheda	Sběratel	Herbář
1976	Polabí, Velký Osek, Libický luh, olšina Havrany pod silnicí na S okraji obce, na suchém kmeni spadlém do vody.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-08	Moravia austr., in luco Horní lesní luh, dicto ca. 2 km situ bor - occ. a pago Dolní Věstonice	Kirschner et Štěpánek	PR
1976-05-26	Rybník Smykov u obce Městečko SZ od Vlašimi	Jeslík	ROZ
1979-05-27	Flora bohemiae septentrionalis: Zahrádky: olšina na S břehu Novozámeckého rybníka při značené cestě	Karel Kubát	LIT
1980-05-02	Kostelec nad L.	F. Rosický	PRC
1980-07-10	Hrdibořice - na louce u rybníka (Hrdibořické rybníky)	Petr Albrecht	BRNM
1983-05-29	Hornomarovský úval, Střeň, tůň v lužním lese při cestě podél železnice k Moravičanům	Č. Deyl	OLM
1983-05-31	Dno vypuštěného rybníka za Novým u Loučenky, Loučeň, o. Nymburk	Josef Šachl	ROZ
1983-06-12	Flora Bohemica: Zalíbené (5 km J Hlinska v Čechách - roztroušeně v příkopě	Petr Bureš	BRNU
1984-05-16	Československo, okr. Mělník: Hledsebe, olšiny u Pšovky SZ od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1984-05-19	Československo, okr. Kolín: Veltruby, břeh velké tůň ve Veltrubském úhu 1 km SZ od západního okraje obce.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1984-06-24	Československo, okr. Mladá Boleslav: Velký Rečkov, rezervace Rečkov na levém břehu Rokytky.	Martina Molíková; Jaroslav Rydlo	ROZ
1985-05-10	Polabí, Kolín, Mokřiny při Labi, olšiny	Č. Deyl	OLM

1985-05-11	Československo, okr. Nymburk: Libice n. C., lesní louka v Libickém uhu 800 m JV až VJV od ústí Cidliny (Křižanků dolík).	Jaroslav Rydlo	ROZ
1985-05-22	Československo, okr. Nymburk: Semice, tůň mimo les na levém břehu Labe 1 km severně od Semické hůry, v trsech Carex pseudocyperus.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1986-05-09	Přehořov, břeh rybníka za J okrajem obce	Kaisler J.	CB
1986-05-09	Tábor, levý břeh Lužnice nedaleko Benešova mlýna Z města	Kaisler J.	CB
1986-05-06	Československo, okr. Kolín: Hradištko II, louka uprostřed jižního břehu Proudnického rybníka	Jaroslav Rydlo; Jan Štěpánek	ROZ
1986-05-12	Flora bohemiae septentrionalis: České kopisty: mokřina při silnici na Terezín před Malou Ohří, louka	Karel Kubát	LIT
1986-05-12	Flora bohemiae septentrionalis: České kopisty: mokrá louka při silnici na Terezín před Malou Ohří /spolu s C. pratensis a C. dentata/	Karel Kubát	LIT
1987-05-10	Flora Bohemica: In paludosis ad Podolí pr. Urbem Bělá	Josef Podpěra	BRNU
1987-05-30	Soběslav, břeh ryb. Nový	Kurka R.	CB
1987-05-26	Frahelž, J břeh ryb. Naděje	Kurka R.	CB
1987-05-26	Frahelž, SV břeh ryb. Měkký	Kurka R.	CB
1988-05-13	Československo: Čelakovice, Pařez v tůni Václavka 3 km SSV od nádraží	Jaroslav Rydlo	ROZ
1988-05-17	Hustopeče nad Bečvou - les na levém břehu Bečvy za mostem, ve vyschlém rameni Bečvy hojně	Z. Hradílek	BRNM
1988-05-18	Morava: Hustopeče nad Bečvou - les na levém břehu Bečvy za mostem, ve vyschlém rameni hojně	Z. Hradílek	OLM
1988-05-18	Morava: Hustopeče nad Bečvou - les na levém břehu Bečvy za mostem, ve vyschlém rameni hojně	Z. Hradílek	OLM
1988-05-18	Morava: Hustopeče nad Bečvou - les na levém břehu Bečvy za mostem, ve vyschlém rameni hojně	Z. Hradílek	OLM
1988-05-18	Morava: Hustopeče nad Bečvou - les na levém břehu Bečvy za mostem, ve vyschlém rameni hojně	Z. Hradílek	OLM
1989-05-10	Flora bohemiae septentrionalis: Postřelná u Jabloného v Podj.: potůček v olšině asi 1,5 km VSV od obce, zřídka; C. pratensis hojně	Karel Kubát	LIT
1989-05-15	Flora bohemiae septentrionalis: Zahrádky u České Lípy: Podmáčená olšina na břehu Novozámeckého rybníka za restaurací Račí pošta, roztr.	Karel Kubát	LIT
1989-05-18	Nakléřov - mokré louky k Libouchci	Karel Kubát	LIT
1989-05-20	okr. Nymburk: Libický luh, lesní louka 800m JV od ústí Cidliny	J. Kostková	ROZ
1989-05-22	Československo: Hradec Králové - Malšovice, tůň na levém břehu Orlice (nad jezem na Orlici).	Š. Husák; Jaroslav Rydlo	ROZ
1989-05-24	Československo, okr. Karlovy Vary: Ostrov, buly v rybníce pod tratí SV od rybníka Horní Candát	Jaroslav Rydlo	ROZ
1990-05-03	Flora Moravica: Radkov (4,5 km situ boreo-orientali. ab urbe Křižanov). Ad ripam piscinae parvae ad marginem austro-occid. pagi.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-03	Flora Moravica: Radkov (4,5 km situ boreo-orientali. ab urbe Křižanov). Ad ripam piscinae Pilský rybník 0,5 km ad merid. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-03	Flora Moravica: Meziboří (7,5 km situ orient.-boreo-orient. ab urbe Křižanov). Ad ripam orien-boreo. piscinae Meziborský in pago.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-04	distr. Křižanov: Meziboří: S okraj rybníka Velký Meziborský, 0,5 SZ od obce	Petr beneš	BRNM
1990-05-04	distr. Křižanov: Radkov: rybník 0,5 Km JJV od obce, hojně	Petr beneš	BRNM
1990-05-06	Flora Bohemica: Ždírec nad Doubravou (40 km situ austro-occid. Ab urbe Hlinsko v Čechách). Ad ripam piscinae inter via ferrea ad Hlinsko et via publica ad Údavy 1,3 km ad septentr. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-06	Flora Bohemica: Ždírec nad Doubravou (40 km situ austro-occid. Ab urbe Hlinsko v Čechách). Ad ripam piscinae inter via ferrea ad Hlinsko et via publica ad Údavy 1,3 km ad septentr. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-06	Flora Bohemica: Rohozná (8 km situ boreo-occid. ab urbe Hlinsko v	Petr Bureš	BRNU

	Čechách). Ad ripam septentr. piscinae Rohozenský Velký 0,5 km ad occid. A pago versus.		
1990-05-07	Flora Bohemica: Jedlová (7 km situ austro-orientali. ab urbe Polička). In fossa secundum viam publicam in pago.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-07	Flora Bohemica: Jedlová (7 km situ austro-orientali. ab urbe Polička). Ad ripam piscinae 0,6 km ad septentr a vico Šest chalup versus 1,2 km ad septentr. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-10	Československo: Lhota pod Přeloučí, staré Labe Votoka (směrem k Labětínu od vsi).	Jaroslav Rydlo	ROZ
1990-05-10	Československo: Velký Osek, mokřadní olšina v Libickém luhu u ZSZ okraje obce, vlevo od cesty do Osečka, za Máčidlem.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1990-05-12	Flora Moravica: Vatín (4 km situ austr. austr. orient. ab urbe Žďár nad Sázavou). Ad ripam piscinae Pivovarský 1,9 km ad boreo-occid. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-19	Flora Bohemica: Jedlová (7 km situ austro-orientali. ab urbe Polička). Ad ripam piscinae parvae prope marginem silvae inter pagos Šest chalup et Dolní Jedlová sub viam publicam 0,6 km ad septentr. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-19	Flora Bohemica: Jedlová (7 km situ austro-orientali. ab urbe Polička). Ad ripam piscinae 1 km ad occid.-boreo-occid a vico Šest chalup 0,7 km ad septentr. a pago versus	Petr Bureš	BRNU
1990-05-19	Flora Bohemica: Modřec (4 km situ austro-orientali. ab urbe Polička). Ad ripam piscinae prope viam publicam (ad Polička) 1 km ad boreo-occid. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1990-05-19	Flora Bohemica: Modřec (4 km situ austro-orientali. ab urbe Polička). Ad ripam piscinae prope viam publicam (ad Polička) 1 km ad boreo-occid. a pago versus.	Petr Bureš	BRNU
1991-05-05	Moravská brána, Týn n. B., Louky při úpatí kopcoviny karpát v chatové oblasti ve dříní 2 km od obce	Č. Deyl	OLM
1991-05-07	Lanžhot, v okolí soutoku řek Dyje a Morava, lužní les	Karel Sutory	BRNM
1991-05-07	Lanžhot, v okolí soutoku řek Dyje a Morava, lužní les	Karel Sutory	BRNM
1991-05-08	Československo, okr. Nymburk: Ostrá, Staré Labe JJV od vsi (při ústí Hronětického náhonu)	Jaroslav Rydlo	ROZ
1991-05-08	Československo: Čelakovice, tůň Grádo	Jaroslav Rydlo; P. Nevečeřa	ROZ
1991-05-10	Flora Bohemica: Štěnec (7 km ZJZ Vysokého Mýta): na vlhčině u potoka 0,5 km J od obce	Alena Shánělová	BRNU
1991-06	Českomoravská vysočina: CHKO Žďárské vrchy, u rybníka Doubravník, v údolí řeky Doubravy, poblíž obce Radostín (mezi Ždírcem u Doubravy a Žďárem nad Sázavou)	D. Fišerová	PR
1991-06-03	ČSFR, conf. Boh. merid. et boh. centr., distr Písek - 6551a, Orlík nad Vltavou.; In zona riparia lacus struct. Orlická přehrada dict non longe a loco Krkavčí skála dicto ssecundum flumine a pago astro-austro-orientem versus	M. Marek	PR
1991-06-24	Brno: pravý břeh rybníka na Říčce u Muchovy boudy	Miroslav Smejkal	BRNU
1991-06-24	Brno: pravý břeh rybníka na Říčce u Muchovy boudy	Miroslav Smejkal	BRNU
1995-05-09	Československo, Hradec Králové: Malšova lhota, u tůně pod Stříbrným rybníkem.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1995-05-16	Československo, okr. Nymburk: Oseček, spadlý dub v tůni 2,5 km S od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1995-05-16	Moravia, Vset. Kotl. -80a: Ratiboř (VS), niva pot. Hološínska, 1,5 Km od středu obce, vlhká louka.	Pavel Lustig	BRNM
1995-05-24	Československo, okr. Chrudim: Podhradí (lichnice), Lovětínský rybník.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1996-05-02	Československo, okr. Nymburk: Kluk, na dubu spadlém do Kmenovy tůně 2,2 km VJV od vsi.	Jaroslav Rydlo; Květa Morávková	ROZ

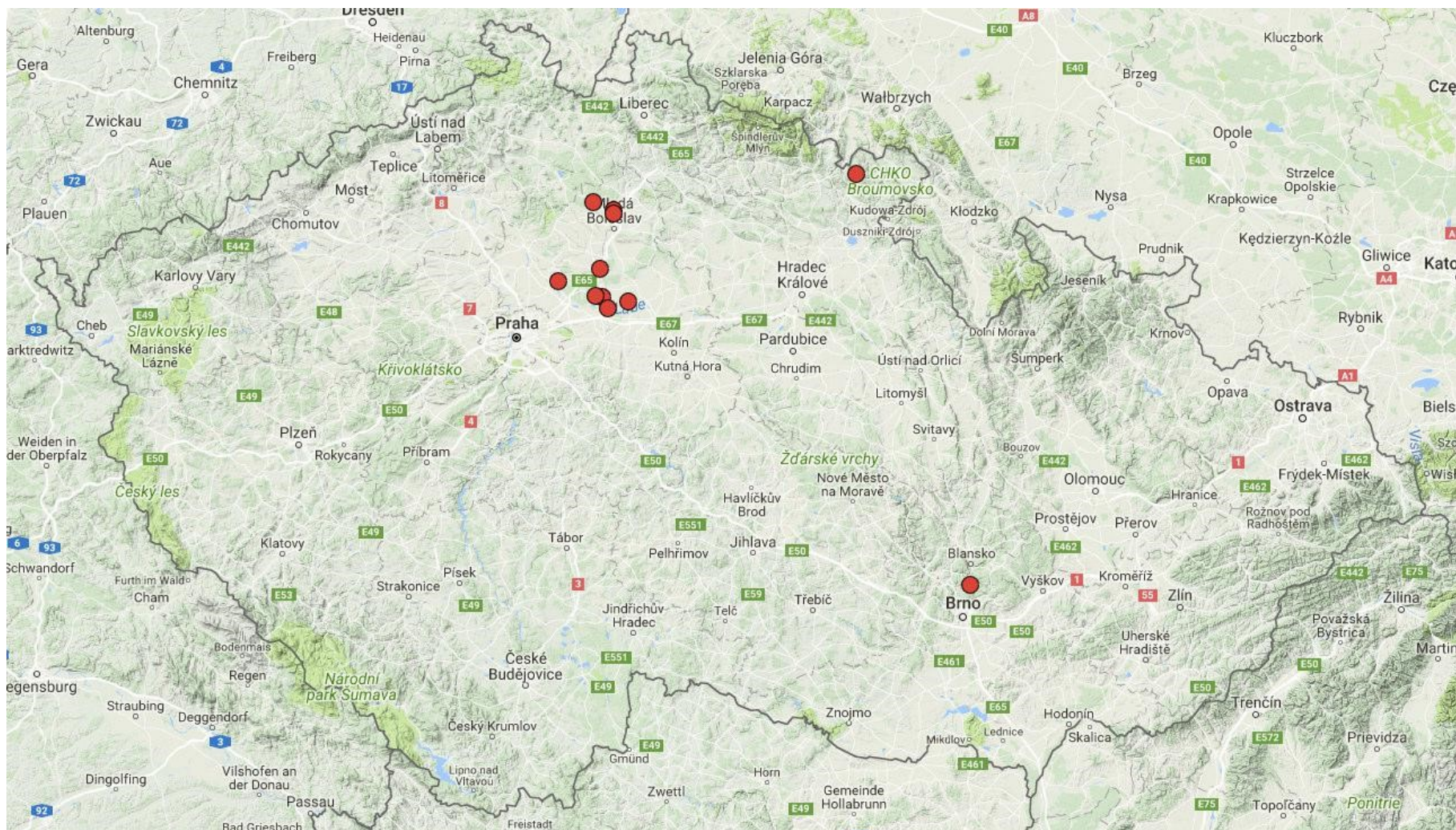
1996-05-14	Děčín: Dolní Chřibská: Prameniště 0,5 km V od Liščího bělidla	Irena Formanová	CELM
1996-05-15	Lužické hory: Chřibská, S nad obcí - pod kostelem, mokrá louka	Květa Morávková	LIM
1997-05-17	Flora Bohemica: Nudvojice, J okraj Turnova, slepé rameno	Václav Mikule	LIM
1997-05-18	Flora Moravica: Lanžhot: Obora soutok, Pláky	Vladimír Řehořek	BRNU
1997-05-25	Československo: Sáňy, bažina v lesích 1,5 km JZ od nádraží.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1997-05-25	Československo: Sáňy, bažina v lesích 1,5 km JZ od nádraží.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1997-07-26	Českomoravská vrchovina: PE: Proseč, 7 km SSZ od Humpolce: v PR rybník pařez na JJV břehu rybníka, 750 m od obce, mokřadní porosty	Ivan Růžička	OLM
1998-04-25	Československo, okr. Nymburk: Sáňy, dávný meandr Cidliny v Sánských lesích 1,5 km ZJZ od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
1998-05-01	Československo, okr. Nymburk: Žehuň, v Žehuňském rybníce při hrázi pravého výtoku (steklá struha) (mezi hrází a lávkou).	Jaroslav Rydlo	ROZ
1998-05-13	Československo, okr. Nymburk: Byšičky, mokrá louka 1,3 km Z od vsi	Jaroslav Rydlo	ROZ
2000-04-22	Československo, okr. Kolín: Žabonosy, rybník u S okraje vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2000-05-15	Československo: Třeboňsko: Vlkov, u železniční tratě.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2000-06-06	Československo: Praha-Klánovice, bažina podél S strany železniční tratě, S od osady Blatov.	Jaroslav Rydlo	ROZ

Tabulka 16: Revidované lokality *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 2001 – 2016

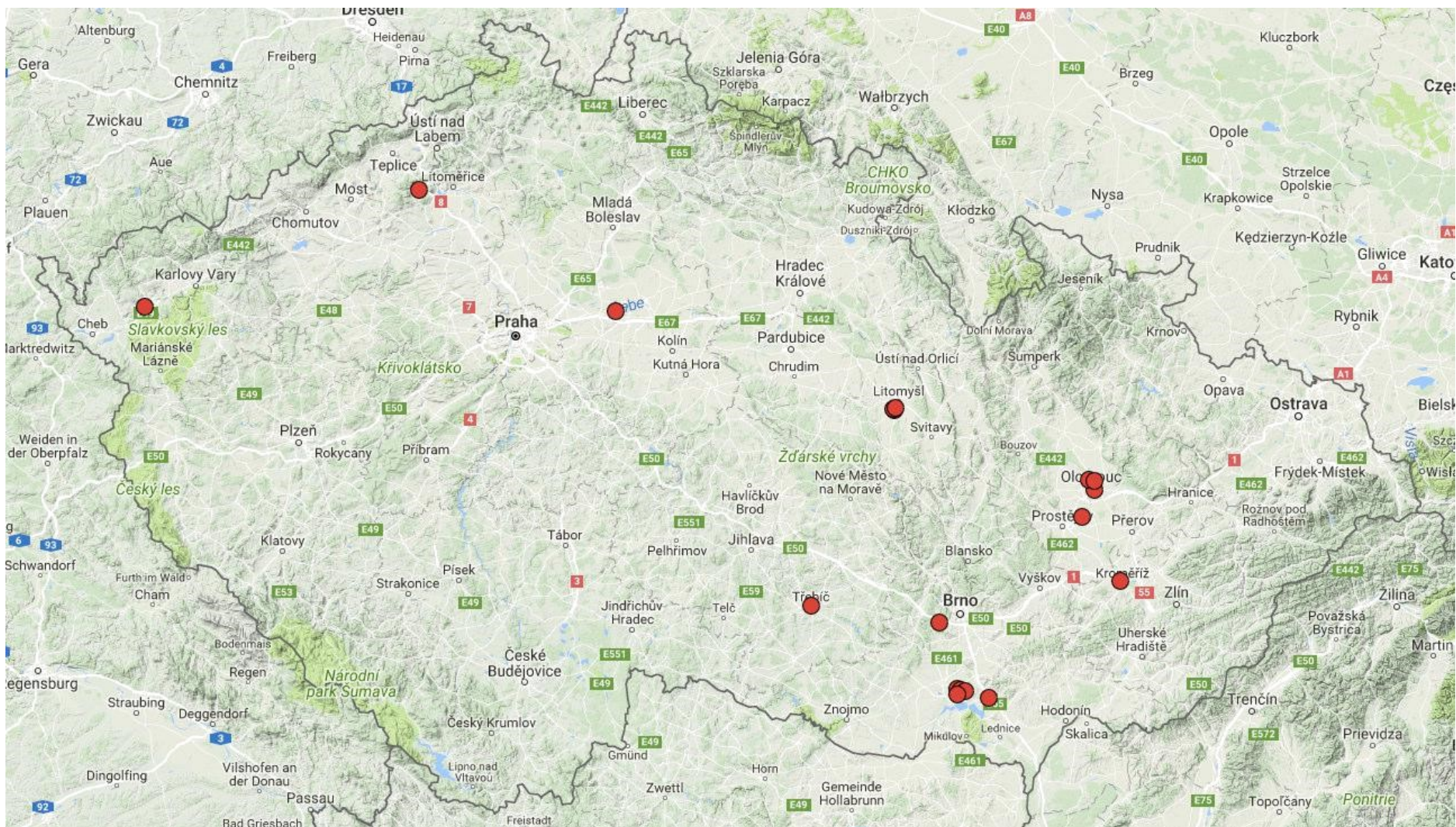
Datum sběru	Scheda	Sběratel	Herbář
2001-05-09	Československo, okr. Mělník: Lobeček, tůň na pravém břehu Vltavy 900 m SSZ od silničního mostu přes Vltavu.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2001-05-10	Československo, okr. Mělník: Dušníky nad Vltavou, Černá tůň S od dálnice, 0,9 km JJZ od vsi	Jaroslav Rydlo	ROZ
2001-05-10	Československo, okr. Mělník: Dušníky nad Vltavou, tůň S od Dálnice, 1 km J od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2001-05-10	Drahotín, v okolí bývalého mlýna (dnes rekreační zařízení) na řece Loučka, cca 2,3 km J obce na břehu řeku	Karel Sutorý	BRNM
2002-05-24	Československo, okr. Nymburk: Kostomlaty n. L., 700 m VSV od zdymadla na Labi	Jaroslav Rydlo	ROZ
2003-05-02	Československo, okr. Kolín: Velký Osek, levý břeh Bačovky v J části vsi (před dělnickým domem)	Jaroslav Rydlo	ROZ
2004-04-29	Flora bohemica: Zábřeh nad Labem: infrequenter in silva Dubina dicta in locis inundatis proximis viae ferriviariae ad austro-occident. a pago	M. Marek	PR
2004-04-30	Československo, okr. Kolín: Velký osek, osecká louka na okraji Libického luhu 800 m SZ od nádraží, 5857/c.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2004-05-04	Československo, okr. Mělník: Červená píska, Městský les	Jaroslav Rydlo	ROZ
2004-05-11	Československo, okr. Nymburk: Byšičky, tůňka 200 m J od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2004-05-11	Československo: Lysá nad Labem, pískovna u osady Řehákova Bouda.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2004-05-12	Československo, okr. Mělník: Tuháň, tůň v městském lese 900 m JJV od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2007-05-01	Československo: Český ráj: Sedmihorky, rybník Bažantník	Jan Rydlo; Jaroslav Rydlo	ROZ
2007-05-12	Československo: Sklené nad Oslavou, rybník Malý Podvesník	Jaroslav Rydlo	ROZ
2007-05-17	Československo, Český ráj: Žehrov, Horní rybník 400 m SSV od Samoty Arnoštica	Jaroslav Rydlo; Daniela Vacková	ROZ
2007-05-29	Československo: Dražanská vrchovina: Skelná huť, lesní rybník 1km SSZ od osady.	Jan Rydlo; Jaroslav Rydlo	ROZ
2009-04-26	Dívčice, močál u železniční trati při SV okraji Zbudovského rybníka cca 800 m JZ od centra obce	Ekrt L., Ekrtová E.	CB
2009-05-13	Československo: okr. Kladno: Čelechovice, rybníček 1,2 km JZ od vsi.	Jaroslav Rydlo	ROZ

2009-05-16	Flora Bohemia Septentrionalis: Lomnice nad popelkou, kopec Tábor, rybníček 1,1 Km ZJZ od kostelíka na vrcholu kopce, zrašelinělý zadek rybníčka.	M. Ducháček	PR
2009-05-16	Flora Bohemia Septentrionalis: Lomnice nad popelkou, kopec Tábor, rybníček 1,1 Km ZJZ od kostelíka na vrcholu kopce, zrašelinělý zadek rybníčka.	M. Ducháček	PR
2009-05-16	Flora Bohemia Septentrionalis: Lomnice nad popelkou, kopec Tábor, rybníček 1,1 Km ZJZ od kostelíka na vrcholu kopce, zrašelinělý zadek rybníčka.	M. Ducháček	PR
2009-05-16	Flora Bohemica boreo-orientalis: Štít JJV od Chlumce nad Cidlinou, písíky v lese ZVZ od obce, břeh polostrova v písáku, cca 1,5 km ZJZ/JZ od křižovatky ve Štítu	M. Ducháček	PR
2009-05-16	Flora Bohemica boreo-orientalis: Štít JJV od Chlumce nad Cidlinou, písíky v lese ZVZ od obce, břeh polostrova v písáku, cca 1,5 km ZJZ/JZ od křižovatky ve Štítu	M. Ducháček	PR
2009-05-20	Československo: Kamenné Žehrovice, bažina na levém břehu Turyňského rybníka 900 m ZJZ od nádraží.	Jaroslav Rydlo	ROZ
2009-05-21	Československo, okr. Kladno: Tuchlovice, hrází oddělená část Velkých Záplav (Turyňského rybníka) 2 km VSV od vsi	Jaroslav Rydlo	ROZ
2009-08-17	Žďár nad Sázavou, v zadní části rybníka Konvent, severovýchodně zámku	Karel Sutorý	BRNM

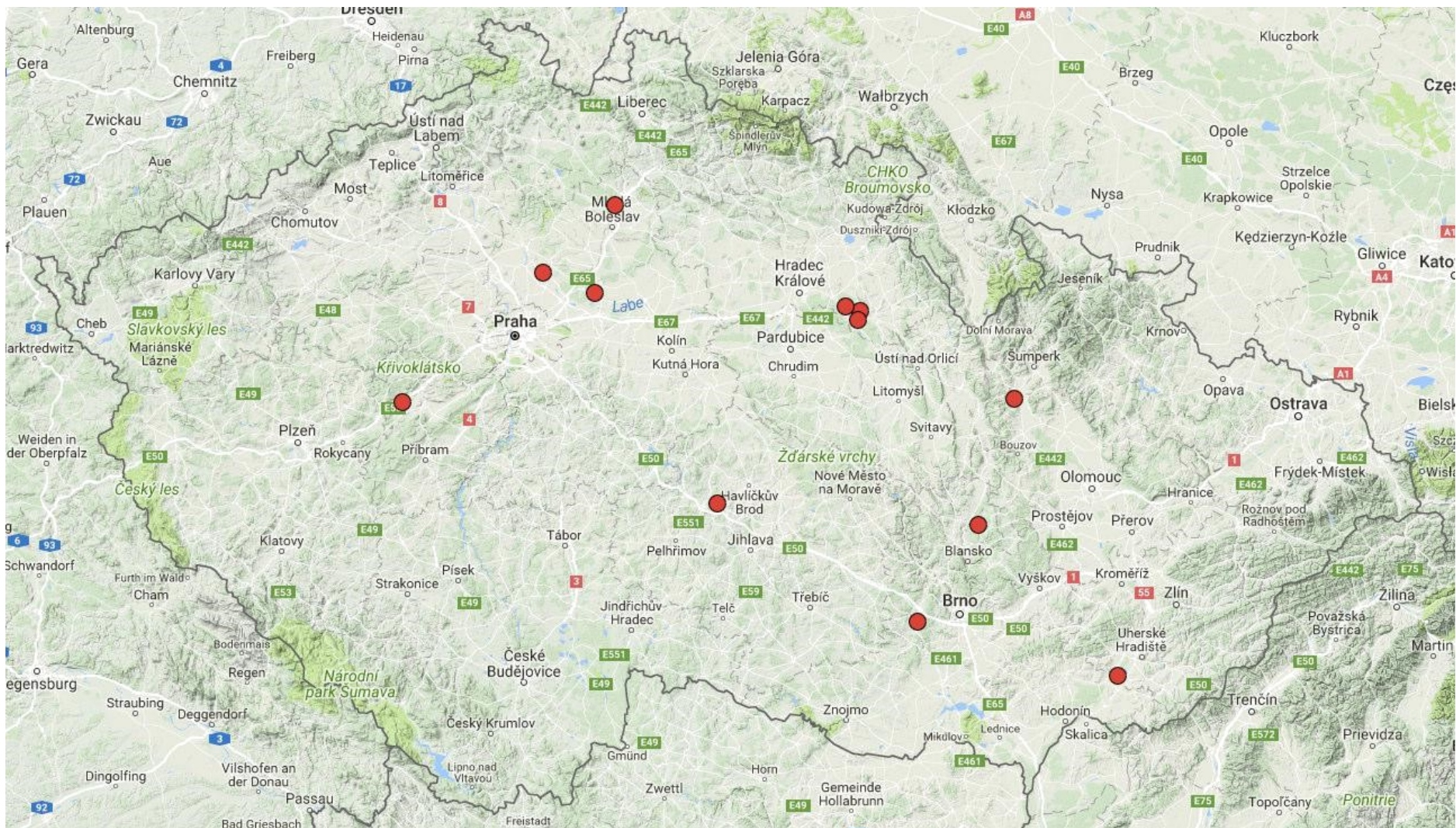
7.4 Vypracované mapy rozšíření na základě revize herbářových položek



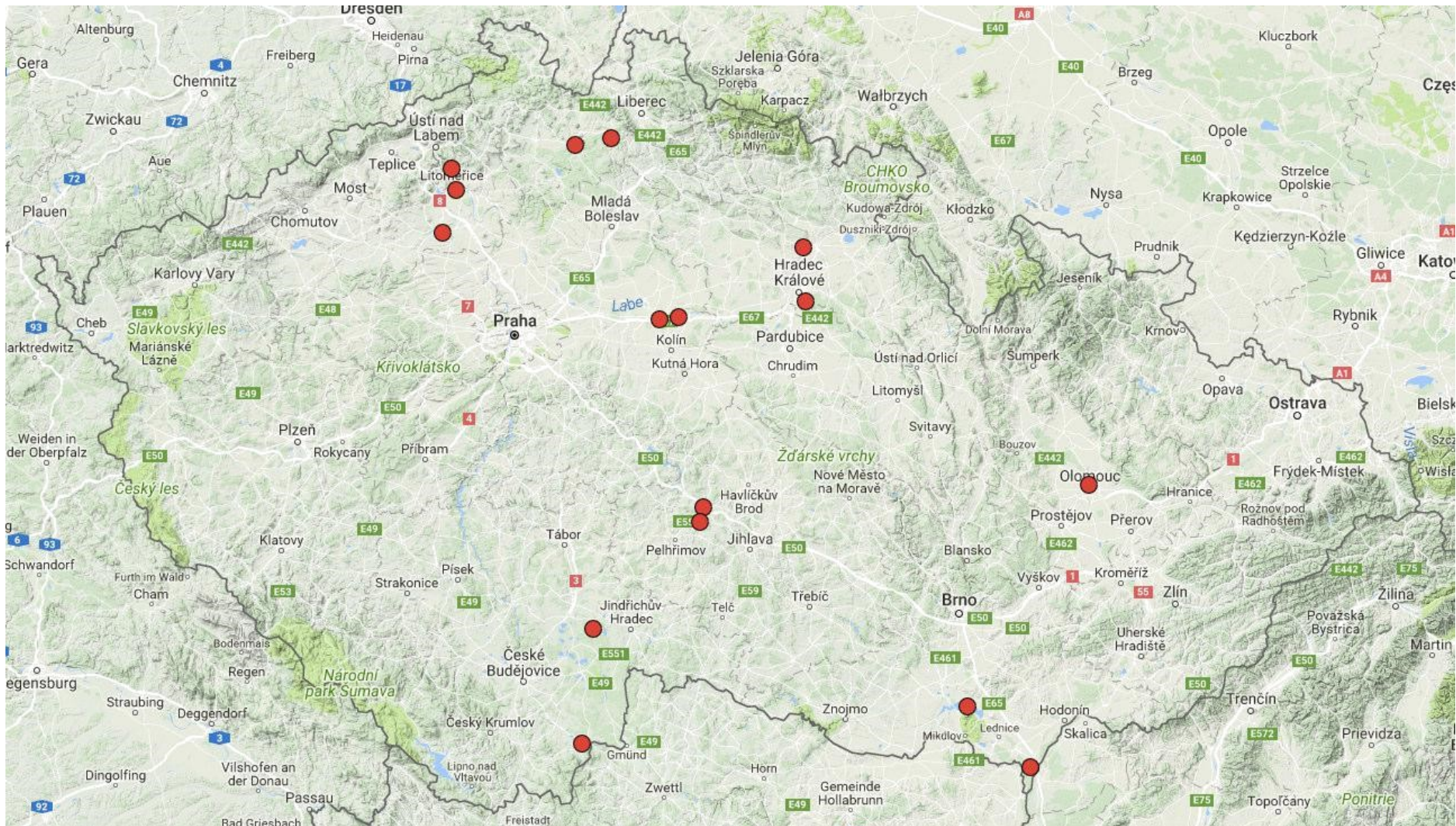
Obrázek 25: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1836 – 1900



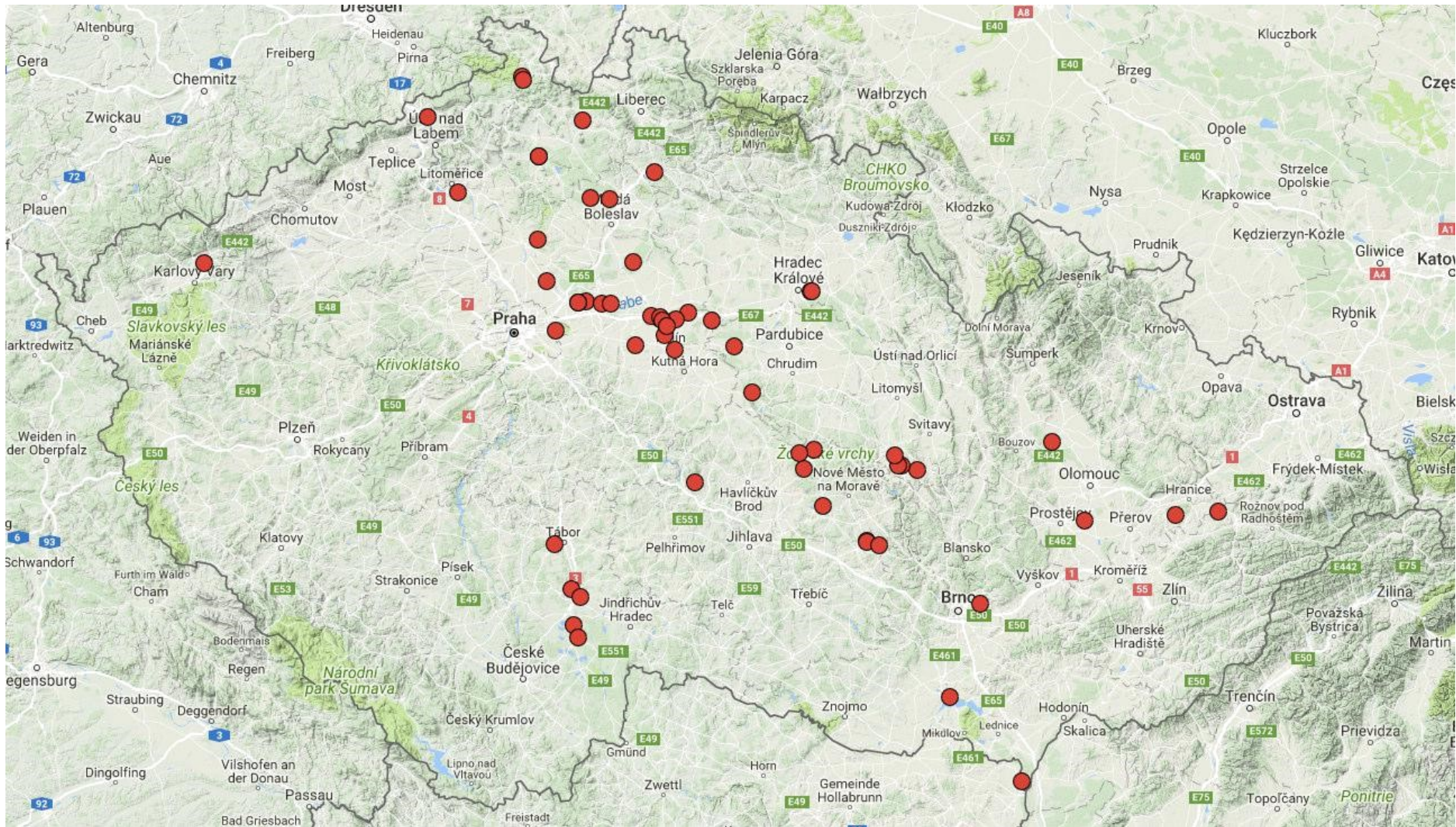
Obrázek 26: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1901 – 1925



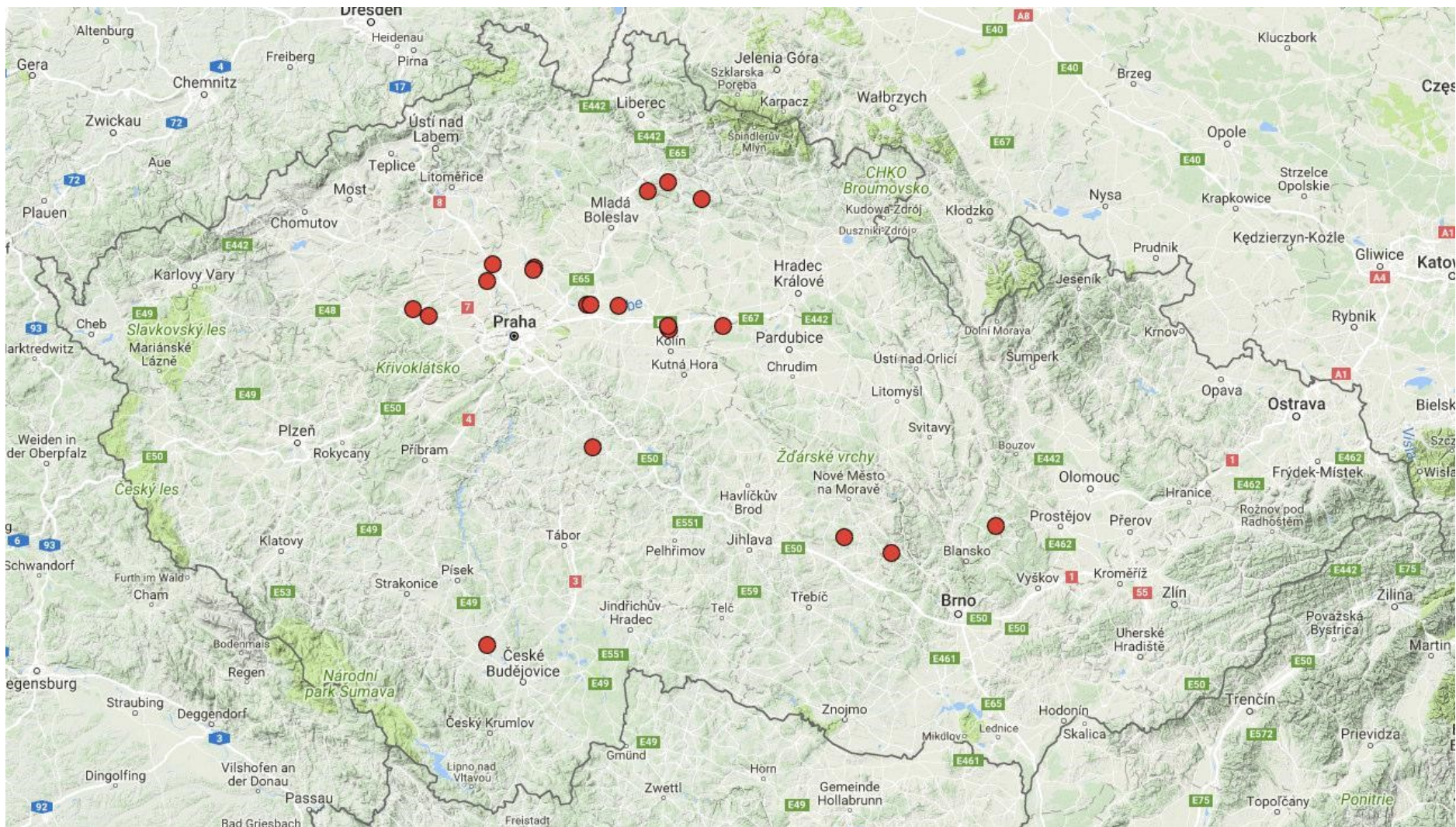
Obrázek 27: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1926 – 1950



Obrázek 28: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1951 – 1975



Obrázek 29: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 1976 – 2000



Obrázek 30: Mapa rozšíření *Cardamine dentata* Schult. v ČR od roku 2001 – 2016

7.5 Primární data z průtokové cytometrie

Tabulka 17: Hodnoty relativní velikosti genomu stanovené metodou průtokové cytometrie pro jednotlivé populace.

Číslo vzorku	Taxon	Lokalita	Standard	FL vzorku	FL standardu	CV vzorku	CV standardu	Index	Vzorek 2C (pg DNA)	Ploidie
CD1 – 01	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	209.50	195.82	1.30	1.21	1,069	3,61	10x
CD1 – 02	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	212.65	197.22	2.10	1.75	1,078	3,64	10x
CD1 – 03	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	210.46	197.23	1.89	1.70	1,067	3,61	10x
CD1 – 04	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	211.30	196.95	1.54	2.00	1,072	3,62	10x
CD1 - 05	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	212.51	197.18	1.64	1.38	1,077	3,64	10x
CD1 - 06	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	211.45	195.22	1.75	1.44	1,083	3,66	10x
CD1 - 07	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	210.57	195.62	1.71	1.66	1,076	3,64	10x
CD1 - 08	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	211.10	195.37	1.65	1.81	1,080	3,65	10x
CD1 - 09	<i>C. dentata</i>	Libický luh Havrany	B	210.43	195.84	1.47	1.89	1,074	3,63	10x
CD2 - 01	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	209.54	195.18	1.52	1.53	1,073	3,63	10x
CD2 - 02	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	211.68	195.99	1.26	1.17	1,080	3,65	10x
CD2 - 03	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	210.96	196.34	1.30	1.36	1,074	3,63	10x
CD2 - 04	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	211.14	196.25	1.27	1.52	1,075	3,63	10x
CD2 - 05	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	208.55	194.06	1.54	1.63	1,074	3,63	10x
CD2 - 06	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	209.37	194.46	1.56	1.54	1,076	3,64	10x
CD2 - 07	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	208.22	192.99	1.61	1.59	1,078	3,64	10x
CD2 - 08	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	206.34	192.72	1.76	1.49	1,070	3,62	10x
CD2 - 09	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	211.77	196.11	1.28	1.44	1,079	3,65	10x
CD2 - 10	<i>C. dentata</i>	Semická tůň rákosiny	B	212.04	197.36	1.26	1.21	1,074	3,63	10x
CD3 - 01	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	215.02	200.38	1.24	1.23	1,074	3,63	10x
CD3 - 02	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	208.86	199.88	1.19	0.19	1,044	3,53	10x
CD3 - 03	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	208.49	194.43	1.49	1.66	1,072	3,62	10x
CD3 - 04	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	210.65	197.89	1.62	1.23	1,064	3,60	10x
CD3 - 05	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	214.28	199.55	1.24	1.30	1,073	3,63	10x
CD3 - 06	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	215.05	199.75	1.54	1.66	1,076	3,64	10x
CD3 - 07	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	207.26	191.97	1.44	1.48	1,079	3,65	10x
CD3 - 08	<i>C. dentata</i>	Semická tůň u výpustě	B	205.34	192.64	1.73	1.47	1,065	3,60	10x

CD4 - 01	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	kryje se s B						
CD4 - 02	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	kryje se s B						
CD4 - 03	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	kryje se s B						
CD4 - 04	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	202.69	194.28	1.18	1.15	1,043	3,53	10x
CD4 - 05	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	203.63	193.90	1.29	1.13	1,050	3,55	10x
CD4 - 06	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	203.56	193.15	1.28	1.67	1,053	3,56	10x
CD4 - 07	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	202.70	192.74	1.32	1.00	1,051	3,55	10x
CD4 - 08	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	203.94	192.92	1.69	1.59	1,057	3,57	10x
CD4 - 09	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	203.13	192.99	1.43	1.74	1,052	3,56	10x
CD4 - 10	<i>C. dentata</i>	Malšovice u jezu	B	203.25	193.07	1.41	1.81	1,052	3,56	10x
CD5 - 01	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	214.55	205.70	1.56	1.29	1,043	3,53	8-11x
CD5 - 02	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	212.90	199.11	1.88	2.07	1,069	3,61	8-11x
CD5 - 03	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	213.95	204.00	1.33	1.42	1,048	3,54	8-11x
CD5 - 04	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	231.54	196.82	1.83	1.58	1,176	3,97	8-11x
CD5 - 05	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	205.48	192.04	1.56	2.05	1,069	3,61	8-11x
CD5 - 06	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	228.12	195.01	1.85	1.46	1,169	3,95	8-11x
CD5 - 07	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	226.62	194.52	2.35	1.89	1,165	3,94	8-11x
CD5 - 08	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	224.74	202.17	2.47	1.81	1,111	3,76	8-11x
CD5 - 09	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	211.22	199.52	1.96	2.18	1,058	3,58	8-11x
CD5 - 10	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	213.49	202.25	1.99	1.76	1,055	3,57	8-11x
CD5 - 11	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	215.90	203.56	1.82	1.84	1,060	3,58	8-11x
CD5 - 12	<i>C. dentata</i>	Čelákovice - Grádo	B	212.75	202.61	1.45	1.36	1,050	3,55	8-11x
CD6 - 01	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	230.69	202.43	1.70	1.38	1,139	3,85	10x
CD6 - 02	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	228.14	201.59	1.56	1.74	1,131	3,82	10x
CD6 - 03	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	227.28	200.32	1.72	1.64	1,134	3,83	10x
CD6 - 04	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	214.84	191.56	2.16	1.97	1,121	3,79	10x
CD6 - 05	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	212.97	191.89	1.71	1.56	1,109	3,75	10x
CD6 - 06	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	217.16	192.01	2.07	1.88	1,130	3,82	10x
CD6 - 07	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	216.22	192.97	1.70	1.79	1,120	3,79	10x
CD6 - 08	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	216.60	192.69	1.70	1.38	1,124	3,80	10x
CD6 - 11	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	222.02	194.17	1.38	1.50	1,143	3,86	10x
CD6 - 12	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	222.04	194.41	1.79	1.60	1,142	3,86	10x
CD6 - 13	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	225.04	197.17	1.52	1.40	1,141	3,86	10x
CD6 - 14	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	226.06	199.49	1.39	1.46	1,133	3,83	10x

CD6 - 15	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	B	227,61	200,33	1,58	1,39	1,136	3,84	10x
CD6 - 15	<i>C. dentata</i>	Podhorský rybník	S	295,94	200,00	1,41	1,88	1,479	2,90	10x
Oseček_1	<i>C. dentata</i>	Oseček	S	298,80	203,04	1,11	1,66	1,471	2,88	10x
Oseček_2	<i>C. dentata</i>	Oseček	S	301,56	203,15	1,31	1,92	1,484	2,91	10x
Oseček_3	<i>C. dentata</i>	Oseček	S	302,27	202,23	1,48	1,81	1,494	2,93	10x
CSB - 01	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	271,08	169,97	1,82	2,63	1,594	3,12	10x
CSB - 02	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	Žádná data						
CSB - 03	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	270,95	196,72	1,39	1,93	1,377	2,70	10x
CSB - 04	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	271,82	197,53	1,40	1,86	1,376	2,70	10x
CSB - 05	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	271,52	196,11	1,38	2,32	1,384	2,71	10x
CSB - 06	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	263,27	192,65	1,59	1,77	1,366	2,68	10x
CSB - 07	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	264,07	193,36	1,53	1,99	1,365	2,68	10x
CSB - 08	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	262,92	195,21	1,57	2,22	1,346	2,64	10x
CSB - 09	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	270,91	197,42	1,29	1,83	1,372	2,69	10x
CSB - 10	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	267,59	196,14	1,57	1,90	1,364	2,67	10x
CSB - 11	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	263,12	193,28	1,77	1,87	1,361	2,67	10x
CSB - 12	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	266,36	194,63	1,69	2,00	1,368	2,68	10x
CSB - 13	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	271,34	196,29	1,63	2,37	1,382	2,71	10x
CSB - 14	<i>C. dentata</i>	CB - Výstaviště	S	271,42	197,33	1,48	2,04	1,375	2,70	10x
DIV - 01	<i>C. dentata</i>	Dívčice	S	294,42	197,12	1,34	1,66	1,493	2,93	10x
DIV - 02	<i>C. dentata</i>	Dívčice	S	289,68	194,76	1,52	2,05	1,487	2,91	10x
DIV - 03	<i>C. dentata</i>	Dívčice	S	294,39	197,10	1,36	2,05	1,493	2,93	10x
DIV - 04	<i>C. dentata</i>	Dívčice	S	289,80	193,77	1,43	1,97	1,495	2,93	10x
KRČ - 01	<i>C. dentata</i>	Krč	S	290,29	197,47	1,53	2,17	1,470	2,88	10x
KRČ - 02	<i>C. dentata</i>	Krč	S	290,50	197,24	1,34	2,11	1,472	2,89	10x
KRČ - 03	<i>C. dentata</i>	Krč	S	294,54	198,07	2,23	1,91	1,487	2,91	10x
KRČ - 04	<i>C. dentata</i>	Krč	S	288,39	196,96	1,65	2,08	1,464	2,87	10x
KRČ - 05	<i>C. dentata</i>	Krč	S	288,42	196,27	1,96	1,74	1,469	2,88	10x
KRČ - 06	<i>C. dentata</i>	Krč	S	291,44	196,50	1,45	2,56	1,483	2,91	10x
KRČ - 07	<i>C. dentata</i>	Krč	S	Žádná data						
KRČ - 08	<i>C. dentata</i>	Krč	S	287,72	195,66	1,75	2,03	1,470	2,88	10x
Zábl. 01	<i>C. dentata</i>	Záblatíčko	S	286,86	194,48	1,42	1,82	1,475	2,89	10x
Zábl. 02	<i>C. dentata</i>	Záblatíčko	S	289,85	197,41	1,62	1,91	1,486	2,91	10x
Zábl. 03	<i>C. dentata</i>	Záblatíčko	S	290,28	197,00	1,44	1,86	1,473	2,89	10x

