

Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty
Univerzity Karlovy v Praze



Cytotaxonomická a morfometrická studie okruhu
Dryopteris dilatata v České republice s důrazem na
České středohoří

Renata Holubová

Školitel

RNDr. Jan Suda PhD.

Konzultant

Doc. RNDr. Karel Kubát, CSc.

Diplomová práce

Praha 2006

Diplomová práce **Renaty Holubové** byla obhájena na katedře botaniky PŘF UK vPraze dne 19.9.2006 a ohodnocena klasifikačním stupněm **v ý b o r n ě**.

Abstrakt

Předložená práce se zabývá cytologickým a morfometrickým zhodnocením okruhu *Dryopteris dilatata*. Tento komplex je v České republice zastoupen dvěma allotetraploidními druhy ($2n=164$) – *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs a jedním druhem diploidním – *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy ($2n=82$). Jednotlivé druhy byly dosud určovány pouze na základě morfologických znaků. Tento postup není spolehlivý, neboť závisí na podmínkách prostředí a subjektivním hodnocení pozorovatele. Také velká morfologická podobnost uvedených druhů a hybridizace ztěžují jejich jednoznačnou determinaci.

Metoda průtokové cytometrie použitá v této diplomové práci umožnila na základě relativního obsahu jaderné DNA (resp. velikosti genomu) spolehlivě odlišit všechny tři druhy. Navíc se tímto způsobem podařilo jednoznačně určit také dva křížence – *D. dilatata* × *expansa* a *D. carthusiana* × *dilatata*. Teprve poté byly mnohorozměrnými statistickými analýzami (PCA, shlukovací a diskriminační analýzy) sledovány jejich morfologické znaky a jejich význam kriticky hodnocen. Na základě nejvýznamnějších znaků byl vytvořen nový klíč k určování těchto druhů i jejich kříženců.

Dále byl zmapován výskyt *D. expansa* v Českém středohoří, neboť věrohodné údaje o rozšíření tohoto druhu v celé České republice dosud chybí. Dvě dosud známé lokality byly potvrzeny a podařilo se objevit několik nových. Kříženec *D. dilatata* × *expansa* se vyskytuje poměrně hojně, zatímco *D. carthusiana* × *dilatata* vzniká pouze ojediněle.

Klíčová slova: *Dryopteris*, *carthusiana*, *dilatata*, *expansa*, × *ambroseae*, × *deweveri*, kříženci, průtoková cytometrie, ploidie, cytotaxonomie, morfometrická analýza, České středohoří.

Abstract

The present MSc. thesis deals with cytotaxonomic and morphometric evaluation of *Dryopteris dilatata* alliance. This group consists of two allotetraploids ($2n=164$) – *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs and one diploid – *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy ($2n=82$) in the Czech Republic. Particular taxa have mostly been determined on the basis of morphological characters only, which is, however, not reliable and may lead to species misidentification, due to phenotype similarity and potential interspecific hybridization.

Relative genome size, determined by DAPI flow cytometry, was used as a taxon-specific marker, which allowed unbiased species/hybrid determination. Along with three parental taxa, two hybrid combinations (i.e. *D. dilatata* × *expansa*, *D. carthusiana* × *dilatata*) were revealed. Multivariate morphometric (PCA, cluster and discriminant analysis) was performed on cytometrically-confirmed individuals, providing unbiased insight into the level of intra- and interspecific variation. Novel determination key is proposed based on results of discriminant analysis.

Distribution map of the neglected *D. expansa* in the České středohoří Mts. is also presented as well as are maps of both nothotaxa. While *D. dilatata* × *expansa* occurs quite often in the area studied, *D. carthusiana* × *dilatata* counterpart is very rare (disproving thus former hypotheses). Because of the lack of reliable data in the whole Czech Republic, the new distribution of *D. expansa* in the České středohoří Mts. was found out. Two hitherto known localities were confirmed and some new places were discovered.

Key words: *Dryopteris*, *carthusiana*, *dilatata*, *expansa*, × *ambroseae*, × *deweveri*, hybrids, flow cytometry, ploidy, cytotaxonomy, morphometric analysis, České středohoří Mts.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně a použila jsem pouze podklady uvedené v příloženém seznamu.

V Praze dne: 21.8.2006

Podpis: Renata Holubová



Poděkování

Chtěla bych poděkovat všem, kteří mi přímo či nepřímo pomáhali při vzniku této práce.

Na prvním místě je to můj školitel RNDr. Jan Suda PhD., kterému patří velký dík nejen za vedení mé diplomové práce, ale i za trpělivost, se kterou se mnou analyzoval vzorky kapradí na cytometru někdy až do pozdních večerních hodin.

Za prvotní uvedení do tématu a další cenné informace děkuji Mgr. Petru Havlíčkovi.

Nemalý dík patří také mému konzultantovi Doc. RNDr. Karlu Kubátovi, CSc., který mě naučil rozlišovat jednotlivé druhy kapradí v terénu a pomohl mi vytipovat možné lokality jednotlivých druhů.

Za zasvěcení do tajů statistických programů a pomoc při analýzách na průtokovém cytometru děkuji Ing. Pavlu Trávníčkovi.

Zvláštní poděkování náleží Mgr. Liboru Ekrtovi, který mi vždy ochotně radil, pomohl mi shromáždit materiál z různých částí ČR a patří mu i prvenství v objevu křížence *D. carthusiana* × *dilatata*.

Velký dík patří také všem knihovnicím, které mi ochotně pomáhaly s vyhledáváním literatury.

V neposlední řadě patří poděkování i rodičům a příteli, kteří mi během studia byli velkou oporou a umožnili mi dokončit tuto práci.

Obsah

1	Úvod	3
2	Rod <i>Dryopteris</i> Adanson	6
2.1	Systematické postavení rodu	6
2.2	Charakteristika rodu	8
3	Charakteristika komplexu <i>Dryopteris dilatata</i>	9
3.1	Taxonomicko-nomenklatorická problematika	9
3.2	Karyologie a původ druhů	10
3.3	Morfologické znaky jednotlivých druhů	12
3.3.1	Přehled a charakteristika nejdůležitějších znaků uvá- děných v literatuře pro odlišení <i>D. carthusiana</i> , <i>D. dilatata</i> a <i>D. expansa</i>	14
3.4	Kříženci	22
3.4.1	Kříženci uvnitř komplexu <i>D. dilatata</i>	22
3.4.2	Kříženci s jinými druhy rodu <i>Dryopteris</i>	27
3.4.3	Kříženci vytvoření experimentální hybridizací	31
3.5	Fytochemie	32
3.6	Ekologie a rozšíření jednotlivých druhů	33
4	Materiál a metodika sběru	39
5	Analýza relativního obsahu jaderné DNA	41
5.1	Průtoková cytometrie	42
5.1.1	Úvod	42
5.1.2	Princip	42
5.1.3	Postup	44
5.1.4	Výsledky	46
5.1.5	Shrnutí výsledků	50
6	Morfometrické analýzy	52
6.1	Měřené znaky	52
6.2	Metodika	57
6.3	Výsledky	60
6.3.1	Korelace znaků	60
6.3.2	Analýza hlavních komponent (PCA)	61
6.3.3	Shlukovací analýza	64
6.3.4	Diskriminační analýza	65

6.3.5	Kanonická diskriminační analýza <i>D. dilatata</i> , <i>D. expansa</i> , <i>D. carthusiana</i> , <i>D. × ambroseae</i> a <i>D. × deweveri</i>	66
6.3.6	Kanonická diskriminační analýza <i>D. dilatata</i> , <i>D. expansa</i> , <i>D. carthusiana</i> versus <i>D. × ambroseae</i> a <i>D. × deweveri</i>	68
6.3.7	Kanonická diskriminační analýza <i>D. × ambroseae</i> a <i>D. × deweveri</i>	71
6.3.8	Kanonická diskriminační analýza <i>D. dilatata</i> , <i>D. expansa</i> versus <i>D. carthusiana</i>	73
6.3.9	Kanonická diskriminační analýza <i>D. dilatata</i> a <i>D. expansa</i>	75
6.3.10	Kanonická diskriminační analýza <i>D. dilatata</i> a <i>D. × ambroseae</i>	77
6.4	Shrnutí výsledků	79
7	Klíč k určování druhů	81
8	Diskuse	83
9	Závěr	89
10	Summary	90
11	Použitá literatura	91
A	Mapy lokalit studovaných druhů na území ČR	100
B	Seznam lokalit	104
C	Výsledky statistických analýz	108
D	CD s fotodokumentací a DP	119

1 Úvod

Polyploidizace patří mezi základní mikroevoluční procesy probíhající v rostlinných populacích. Dle odhadů se 70 - 80 % všech cévnatých rostlin vyvinulo právě tímto způsobem (Briggs et Walters 2001). Většina polyploidních druhů navíc vznikla opakovaně, přičemž jednotlivé linie se mnohdy vyznačují souborem jedinečných charakteristik. Znásobení počtu chromozómů se projevuje nejen v genetické a morfologické variabilitě, ale i v intenzitě fyziologických pochodů, fenologii a způsobu reprodukce. Tento proces společně s hybridizací může dále vést i k ekologické diferenciaci populací s odlišnou ploidní úrovní či populací hybridních za vzniku nových unikátních taxonů.

U kapradorostů je jedním z nejvýznamnějších zdrojů genetické variability proces allopolyploidizace, při kterém zdvojení chromozómových sad následuje až po hybridizaci a může k němu docházet i opakovaně. Odhaduje se, že 95% existujících leptosporangiátních kapradin je polyploidního původu (Leitch et Bennett 1997). Zcela opačným procesem, který není dosud u této skupiny rostlin úplně prozkoumán, je indukovaná apogamie. Při ní vzniká nový jedinec přímo z gametofytu bez pohlavního procesu a obsahuje pouze poloviční počet chromozómových sad. Z původně tetraploidních rostlin tedy vznikají pouze diploidní (Manton et Walker 1954).

Jednou ze skupin kapradorostů, na jejímž evolučním utváření se podílela polyploidizace a hybridizace, je komplex *Dryopteris dilatata*. Ve střední Evropě je zastoupen dvěma allotetraploidními druhy ($2n=164$) - *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray a *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs a jedním diploidním taxonem *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy ($2n=82$). Celý komplex *D. dilatata* je považován za velmi obtížný jak z hlediska podobné morfologie trofosporofyly a plasticity jednotlivých druhů, tak i určitého podílu hybridizace v oblastech kontaktu více taxonů. Determinací jednotlivých zástupců tohoto komplexu se již zabývala řada botaniků, ale pouze na základě morfologických znaků. To však nemusí být vždy spolehlivé, neboť na celkový habitus rostlin mohou mít vliv i různé podmínky prostředí. Navíc valná většina diakritických znaků je kvantitativních, přičemž u jednotlivých taxonů může nezřídka docházet k překryvu hodnot. Proto byl hledán takový znak, který by byl nezávislý na morfologických charakteristikách a přesto umožnil jednoznačné vymezení těchto taxonů. V posledních letech je jako spolehlivý taxonomický znak u mnoha problematických skupin rostlin využíván obsah jaderné DNA - např. u r. *Elytrigia* (Mahelka et al. 2005). Současné výzkumy ukazují, že množství jaderné DNA (velikost genomu) je v rámci druhu stále, zatímco mezi blízkými příbuznými druhy často existují rozdíly (Murray 2004). I předběžné analýzy v komplexu *D. dilatata* ukázaly, že všechny střeoevropské taxony se liší velikostí genomu. To umožňuje nejen jejich jednoznačné od-

lišení, ale i kritické zhodnocení morfologických znaků uváděných v literatuře. Navíc rozdíly ve velikosti genomu mezi jednotlivými druhy byly dostatečně velké (minimálně ca. 20 %), aby bylo možné detekovat i hybridní jedince (vč. homoploidních). O využití velikosti genomu jako druhově specifického markeru v této skupině dosud neexistují žádné údaje. Lze však předpokládat, že tento postup dovolí kritické zhodnocení morfologické variability i frekvence hybridizace.

Také rozšíření druhu *D. expansa* není příliš známo. Na území České republiky začal být tento taxon rozeznáván poměrně pozdě, a proto o místech jeho výskytu dosud chybí ucelené údaje (Chán 1999). Rovněž v Červeném seznamu cévnatých rostlin ČR (Procházka 2001) je tento taxon řazen do kategorie C4 (vzácnější taxony vyžadující zvláštní pozornost, které jsou nedostatečně prostudované). Literární údaje (Chán 1999, Chrtek 1988 aj.) uvádí druh *D. expansa* především z jižní části Čech (hl. Šumavy), Českého ráje, Lužických hor a Hrubého a Nízkého Jeseníku. Z oblasti Českého středohoří jsou dosud evidovány pouze dvě lokality, ve kterých je tento druh vázán na chladné sutě s ledovými jámami (Kubát 2003 - ústní sdělení). Citované údaje se opět opíraly výhradně o morfologickou determinaci *D. expansa*, přičemž nejsou vyloučeny záměny s feneticky velmi podobnou *D. dilatata*. Potvrzení výskytu na základě cytometrických údajů lze považovat za mnohem spolehlivější.

Cíle diplomové práce:

- Lze velikost genomu v komplexu *D. dilatata* použít jako druhově-specifický marker?
- Jaké je rozšíření *D. expansa* v Českém středohoří?
- Jak často se jednotlivé druhy komplexu *D. dilatata* vyskytují ve smíšených populacích? Jaké hybridní kombinace lze v takových podmínkách zaznamenat?
- Jaké morfologické znaky vykazují rodičovské druhy a jejich kříženci? Je možné hybridní druhy rozlišit na základě jejich morfologie?

2 Rod *Dryopteris* Adanson

2.1 Systematické postavení rodu

Rod *Dryopteris* patří spolu s rody *Polystichum* a *Gymnocarpium* do čeledi *Dryopteridaceae* Ching (Kubát et al. 2002, Jessen 2005). Dříve byly do této čeledi řazeny i rody *Lastrea* a *Phegopteris* (Dostál 1984, Hendrych 1977, Novák 1972). Ty jsou však dnes součástí jiné čeledi (*Thelypteridaceae* Pichi-Sermolli).

Čeď *Dryopteridaceae* je ve starších publikacích často uváděna pod synonymy *Aspidiaceae* nebo *Polypodiaceae* (Hendrych 1977, Chrtek 1988, Novák 1972). Podle toho, jaké rody jsou do této čeledi zahrnovány, liší se i údaje o počtu zástupců. Novák (1972) uvádí pro čeď *Dryopteridaceae* 25 rodů s 1500 druhy, zatímco Chrtek (1988) zmiňuje stejný počet rodů, ale pouze s 800 druhy, které jsou rozšířeny po celém světě (zejména v horských lesích tropického pásma). Dle Kramera (Kramer et al. 1990) patří do této čeledi 44 rodů, neboť ji ještě dále rozděluje podle uspořádání cévních svazků do těchto podčeledí:

Podčeď *Dryopteridoideae*, pro kterou je charakteristický řapík s třemi a více cévními svazky uspořádanými do půlkruhu. V rámci této podčeledi se ještě rozlišují následující triby: *Rumohreae* (1 druh), *Dryopterideae* (2-15 druhů) a *Tectarieae* (16-29 druhů).

Řapík u **podčeledi *Athyrioidae*** má pouze dva cévní svazky, které se směrem k jeho horní části spojují v jeden svazek. Patří sem tyto dva triby: *Physematieae* (31-42 druhů) a *Onocleaeae* (43-45 druhů). Dnes je tato podčeď uváděna jako čeď *Woodsiaceae* (syn. *Athyriaceae*, jejímž nejznámějším zástupcem je *Athyrium filix-femina* (Kubát et al. 2002)).

V širokém celosvětovém pojetí je rod *Dryopteris* ještě členěn do podrodů *Pycnopteris*, *Dryopteris*, *Erythrovariae* a *Nephrocystis* (Fraser-Jenkins 1986, Kramer 1990). Jejich charakteristické morfologické znaky a rozšíření jsou uvedeny v následujících odstavcích.

podrod *Pycnopteris* (Moore) Ching – Čepel je 1x zpeřená a oproti ostatním skupinám mají listy velmi tuhou kožovitou texturu. Lístky jsou mělce a nepravidelně laločnaté.

V rámci tohoto podrodu jsou rozlišovány čtyři druhy, jejichž výskyt je omezen pouze na východní Asii.

podrod *Dryopteris* Adanson – Čepel je 1-4x zpeřená a mírně kožovitá. Lístečky jsou obvykle více či méně symetrické k ose čepele a většinou se nesvažují na akroskopickou bázi¹. Řapík a vřeteno listu jsou obvykle hustě pokryty plevinami, které jsou na bázi řapíku širší.

Tento podrod zahrnuje 11 sekcí, včetně sekce *Lophodium*, jejíž součástí jsou druhy *D. dilatata*, *D. carthusiana* a *D. expansa*. Jako charakteristický znak této sekce je uváděn především ostnitý povrch spor a dvoubarevné pleviny. Její součástí je celkem 10 druhů, které jsou rozšířeny v mírném pásmu severní polokoule a na několika ostrovech (Kanárské a Azorské ostrovy, Madeira). Areál celého podrodu je velmi rozsáhlý, neboť kromě Evropy zasahuje do Severní a Jižní Ameriky i Afriky.

podrod *Erythrovariae* (H. Ito) Fraser-Jenkins – Stejně jako u předchozího podrodu je i zde čepel 1-4 x zpeřená, ale křehčí. I lístečky jsou symetrické k ose čepele, avšak k vlastní ose jsou často asymetrické a svažují se na akroskopickou bázi. Další rozdíl oproti podrodu *Dryopteris* spočívá v hustotě a tvaru plevin. U této skupiny se pleviny nacházejí většinou jen na bázi řapíku a jsou velmi úzké. U některých druhů dokonce zcela chybí.

Tato skupina zahrnuje 3 sekce, ve kterých je většina druhů apomiktických. Areál zástupců podrodu *Erythrovariae* je omezen na východní Asii (s výjimkou jednoho druhu na Nové Guinei). Centrum výskytu je soustředěno do Japonska a východní Číny (včetně Taiwanu), dále okrajově zasahuje do Korei, jihovýchodní Asie a severovýchodní Indie.

podrod *Nephrocystis* (H. Ito) Fraser-Jenkins – Čepel je 2-4 x zpeřená, podobná podrodu *Dryopteris*, ale na bázi je širší, hladká a olýsalá. Lístečky jsou vždy asymetrické a svažují se na akroskopickou bázi. Na řapíku jsou úzké až vejčité pleviny, které někdy opadávají. Horní část řapíku a vřeteno listu jsou většinou lysé nebo pokryté velmi drobnými a úzkými plevinami.

Zástupci tohoto podrodu se vyskytují v Africe, Asii, Austrálii a Oceánii (jeden druh i ve Střední Americe). Nejvíce druhů se nachází v jihovýchodní Asii a na Srí Lance.

¹stočení lístků nahoru

2.2 Charakteristika rodu

Zástupci rodu *Dryopteris* představují vytrvalé trsnaté rostliny s krátkým a silným oddenkem, který může být vystoupavý, přímý nebo zřídka plazivý. Obvykle bývá pokryt zbytky odumřelých listů a širokými plevinami světle hnědé až tmavě hnědé barvy. Také řapík je plevinatý a tvořený 5-7 cévními svazky.

Listy jsou obvykle středně velké a kožovité. Někdy jsou rozlišeny na trofofyly² a sporofyly, které se odlišují tvarem a velikostí (např. *D. cristata*), ale většina zástupců má spíše pouze trofosporofyly. Čepel je trojúhelníkovitá, podlouhlá nebo kopinatá a obvykle 1 - 3 (-4)x zpeřená.

Výtrusnicové kupky (sori) mají kulovitý tvar. Na okrajích jsou kryté lysou až žláznatou, někdy opadavou ostěrou (indusium) ledvinitého až srdcovitého tvaru, která k listu ve výkrojků přirůstá. Výtrusy (spory) jsou elipsoidní, s jemně zbrázděným nebo ostnitým povrchem perinia (podle Fraser-Jenkins 1986, 1994, Chrtek 1988, Novák 1972, Stace 1997).

V rámci tohoto rodu je celkem známo cca 150 - 225 (-240) druhů, které jsou rozšířeny především v horských lesích mírného pásma severní polokoule. V tropických oblastech je jich mnohem méně nebo zde zcela chybí.

Zástupci r. *Dryopteris* se nacházejí téměř na všech kontinentech s výjimkou Antarktidy. V některých oblastech je však počet druhů velmi omezen. Například v Austrálii se nalézá pouze jeden druh (jiho-východní asijský element) a na Novém Zélandu jsou jen dva introdukované druhy. Centrem rozšíření a diverzity je jihozápadní Čína, východ Himalájí a Japonsko. Dále se hojně nacházejí na Taiwanu, jv. Asii, části Indie a v Evropě. K dalším významným oblastem výskytu patří i východní část Severní Ameriky, Střední Amerika a západ Jižní Ameriky.

²Trofofyly jsou asimilující listy bez výtrusnicových kupek, zatímco sporofyly nesou pouze výtrusnicové kupky (Kubát et al. 2005).

3 Charakteristika komplexu *Dryopteris dilatata*

V Evropě se nalézá asi 19 druhů r. *Dryopteris*. Většina z nich je součástí těchto tří skupin: *Dryopteris filix-mas* agg., *Dryopteris villarii* agg. a *Dryopteris dilatata* agg.

Do komplexu *Dryopteris dilatata* (syn. *D. carthusiana* agg., *D. spinulosa* agg.) jsou ve střední Evropě zahrnovány následující druhy: *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs, *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray a *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy³. Dříve byla do této skupiny řazena i *D. cristata* (L.) A. Gray. Vzhledem k výrazně odlišné morfologii listů a povrchu spor však již tento druh součástí tohoto komplexu není, a to i přesto, že je příbuzný s druhem *D. carthusiana* (Jessen 2005, Piekos-Mirkowa 1979, Reichstein 1997).

3.1 Taxonomicko-nomenklatorická problematika

Nomenklatura studované skupiny je velmi komplikovaná a k jednotlivým druhům se váže velký počet synonym. Podrobné nomenklatorické zhodnocení však nebylo předmětem diplomové práce a tyto informace je možné nalézt v publikacích (Fraser-Jenkins et Jermy 1977a, Fraser-Jenkins 1980, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Piekos-Mirkowa 1979).

D. carthusiana byla nejprve popisována jako *Polypodium spinulosum* O. F. Müller (r. 1777). V roce 1786 byla nově popsána jako *Polypodium carthusianum* Vill. a následně se z oblasti středního Německa poprvé objevil popis druhu *D. dilatata* (uváděný pod synonymem *Polypodium dilatatum* Hoffm.), který do té doby nebyl odlišován od *Polypodium spinulosum*. Nomenklatura a zařazení těchto dvou taxonů způsobily mnoho nedorozumnění. Podle toho, jak se měnily pojetí rodů, byly tyto taxony řazeny do rodů *Aspidium*, *Polystichum*, *Nephrodium*, *Lastrea*, *Thelypteris* a *Dryopteris*.

Vzhledem k velké morfologické variabilitě byly druhy *D. dilatata* a *D. carthusiana* často zaměňovány a to nejen mezi sebou, ale dokonce i se zcela nepříbuzným druhem *Athyrium filix-femina* (Piekos-Mirkowa 1979). I v publikaci Flóra Slovenska (Schidlay 1966) jsou oba druhy považovány za velmi variabilní, neboť vytváří řadu přechodných forem, mezi kterými nelze vymezit přesnou hranici. Z tohoto důvodu jsou ve zmiňované publikaci uváděny pouze jako subspecie v rámci rodu *D. carthusiana* (pod synonymy: *D. spinulosa* subsp. *spinulosa* (O. F. Müll) Watt, *D. carthusiana*

³Nomenklatura jednotlivých taxonů je uvedena podle Klíče ke květeně ČR (Kubát et al. 2002). U kříženců byla použita nomenklatura podle publikace Illustrierte Flora von Mitteleuropaea (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

subsp. *dilatata* (G. F. Hoffm.) C. Christens s. str. a *D. carthusiana* subsp. *assimilis* (S. Walker) Schidlay comb. nova).

D. expansa nebyla od *D. dilatata* odlišována až do 50. let 20. století. Teprve rozvoj cytologických výzkumů vedl k objevení dvou cytotypů (diploidního a tetraploidního) v rámci druhu *D. dilatata* (Manton 1950). Na základě dalších poznatků z oblasti cytogenetiky a morfologie byl v roce 1955 diploidní cytotyp povýšen na samostatný druh a nazván *D. assimililis* (Walker 1955). Jak se později ukázalo, byl již tento taxon objeven v roce 1857 a na základě morfologických znaků popsán jako *Lastrea dilatata* var. *alpina* T. Moore (Walker 1961). Cytologicky determinovaný materiál, na jehož základě byla *D. assimililis* popsána, pochází z lokality Ben Lawers ve Skotsku. V roce 1977 byla provedena taxonomická revize tohoto taxonu a zavedeno jméno *Dryopteris expansa* (Fraser-Jenkins et Jermy 1977a). Důvodem byl objev herbářové položky sbírané v Kanadě, která pocházela z roku 1825 a byla popsána jako *Nephrodium expansum* C. Presl. Následný výzkum typového materiálu tohoto druhu ukázal, že se jedná o *D. assimililis*, ale prioritní je epitet *expansa*.

3.2 Karyologie a původ druhů

Počet, tvar a velikost chromozómů spolu s dalšími znaky (morfologickými, ekologickými nebo chemickými) je často využíván pro charakteristiku určité taxonomické skupiny. Především znalost chromozómového počtu může být cenným vodítkem ve skupinách morfologicky podobných a snadno zaměnitelných druhů.

V komplexu *D. dilatata* je stanovení počtu chromozómů velmi důležité, neboť umožňuje jednoznačně determinovat druhy *D. dilatata* a *D. expansa*. Oba tyto taxony jsou na základě morfologických znaků velmi obtížně odlišitelné, ale *D. expansa* je diploidní, zatímco *D. dilatata* je tetraploidní (základní chromozómové číslo r. *Dryopteris* je 41). Přehled chromozómových počtů v somatických buňkách všech zástupců komplexu *D. dilatata* i s jejich hybridy je uveden v tabulce č. 3.1.

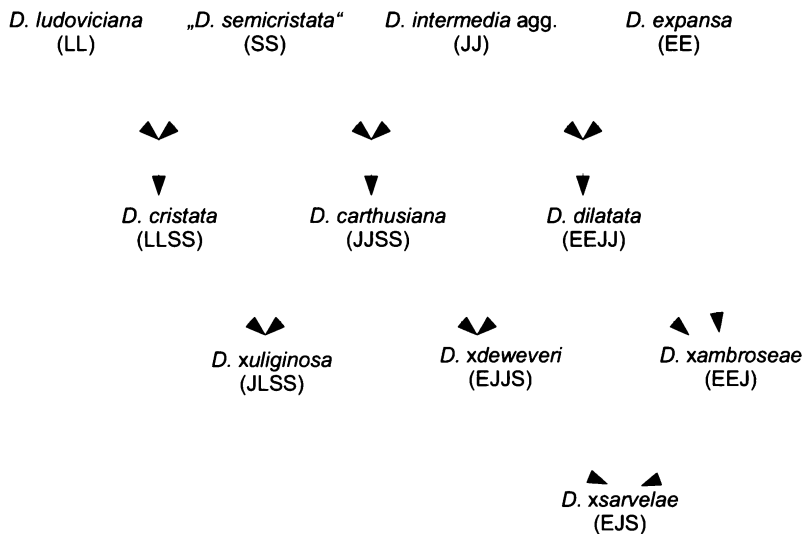
Na základě prvních výzkumů analýzy chromozómů bylo zjištěno, že na evolučním utváření celé skupiny se podílela především polyploidizace a hybridizace (Walker 1955, Gibby et Walker 1977). *D. carthusiana* a *D. dilatata* jsou tedy allotetraploidní⁴ druhy, které mají celkem v somatických buňkách

⁴Při tomto procesu dochází ke křížení dvou diploidních druhů a vzniká sterilní hybrid. Zdvojením (polyploidizací) sady chromozómů u tohoto hybrida dochází k vytvoření nové fertillní rostliny (allotetraploidní). Allopolyploidie může mít dokonce za následek i „pozvolné mizení“ morfologických rozdílů (např. ve tvaru listu) mezi zahrnutými taxony (Viane 1986).

Druh	Počet chromozómů (2n)	Ploidie
<i>D. carthusiana</i>	164	4x
<i>D. dilatata</i>	164	4x
<i>D. expansa</i>	82	2x
<i>D. × ambroseae</i>	123	3x
<i>D. × deweveri</i>	164	4x
<i>D. × sarvelae</i>	123	3x

Tabulka 3.1: Přehled počtu chromozómů evropských druhů a jejich kříženců v komplexu *D. dilatata* (Jessen et Rasbach 1987, Leonhards et al. 1990). Pozn.: *D. × ambroseae* - *D. dilatata* × *expansa*, *D. × deweveri* - *D. carthusiana* × *dilatata*, *D. × sarvelae* - *D. carthusiana* × *expansa*.

164 chromozómů. Jak je patrné z obrázku č. 3.1, oba taxony mají část genomu společnou, neboť pocházejí ze stejného diploidního předka. Tím je severoamerický druh *D. intermedia* (Muhl.) A. Gray⁵. Druhým druhem, který se podílel na vzniku *D. dilatata* je diploidní taxon *D. expansa*.



Obrázek 3.1: Znázornění příbuzenských vztahů uvnitř komplexu *D. dilatata* (Jessen et Rasbach 1987). Pozn. v závorkách je u každého druhu uveden jeho genomový vzorec (každé písmeno reprezentuje základní sadu chromozómů). *D. intermedia* agg. zahrnuje druhy *D. intermedia*, *D. maderensis* a *D. azorica*.

⁵*D. intermedia* je součástí komplexu *D. intermedia* agg., do kterého patří i jeho velmi blízké příbuzné druhy *D. azorica* (Christ) Alston a *D. maderensis* Alston. Tyto druhy vznikly zřejmě ze společného předka a jsou odděleny pouze geograficky. Proto bývají označovány stejným genomem (JJ).

U *D. carthusiana* se druhý druh, který se podílí na složení jejího genomu, v přírodě nepodařilo najít. Protože se jedná o stejný genom, který se podílel i na vzniku *D. cristata*, byl tento hypotetický nenalezený druh nazván „*D. semicristata*” (Leonhards et al. 1990). Někteří autoři (Widén et Britton 1985) uvádí, že by se mělo jednat o druh *D. tokyoensis* (Matsum. ex Makino) C. Chr. z východní Asie, neboť má podobné chemické složení (velké množství desaspidinu a tridesaspidinu) a morfologické znaky jako *D. carthusiana*.

Výzkum indukované apogamie u *D. dilatata* poskytl další důkaz proti autoployploidnímu vzniku tohoto druhu (Manton et Walker 1954). Vzniklé rostliny měly poloviční počet jednoduchých nespárovaných chromozómů (82), abortované spory a také dosahovaly nižšího vzrůstu (než rostliny vzniklé pohlavním procesem).

3.3 Morfologické znaky jednotlivých druhů

Komplex *D. dilatata* se vyznačuje velkou morfologickou variabilitou, jež je zřejmě z velké části způsobena vyšším stupněm ploidie těchto rostlin (Widén et Sorsa 1968). Nelze vyloučit ani opakovaný vznik polyploidů. Z tohoto důvodu byly v minulosti popisovány četné formy a variety těchto taxonů. Domin (1942) rozlišuje druh *D. dilatata* (pod synonymem *D. austriaca*) do 11 forem a těchto variet:

var. *mutica* A. Br. – okraje lístečků většinou tupé

var. *deltoidea* (Milde) Podp. – okraje lístečků ostnitě špičaté

var. *oblonga* (Milde) Podp. – čepel vejčité podlouhlá až podlouhlá, lístky delší, vejčité podlouhlé

var. *medioxima* Christ – čepel úzce podlouhlá, spodní lístky krátce trojúhelníkovité a velmi oddálené

var. *dumetorum* Sm. – čepel trojúhelníkovitá, zřídka delší než 30 cm

var. *Chanteriae* Moore – čepel podlouhlá nebo vejčité podlouhlá, lístkové úkrojky oddálené

var. *collina* Moore – čepel podlouhlá nebo vejčité podlouhlá, lístkové úkrojky se navzájem dotýkají

Také *D. carthusiana* (syn. *D. spinulosa*) se dle výše zmiňovaného autora dělí do 10 forem a následujících variet:

var. *glandulosa* (Milde) Podp. – listy žláznaté

var. *submutica* Rohlena – listy nežláznaté, okraje lístečků tupé

var. *exaltata* (Lasch) Podp. – listy nežláznaté, okraje lístečků zřetelně špičaté, čepel širší

var. *elevata* (A. Br.) Podp. – čepel vejčité–kopinatá

Takto podrobné členění se však později ukázalo jako málo účelné. Pouze dvě variety druhu *D. carthusiana* (konkrétně var. *elevata*, var. *exaltata*) jsou některými autory nadále rozlišovány (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Chrtěk 1988, Piekos-Mirkowa 1975, 1979). Jejich charakteristické znaky jsou uvedeny v tabulce č. 3.2. Dle popisu Piekos-Mirkowa (1979) připomíná *D. carthusiana* var. *exaltata* svým vzhledem spíše *D. dilatata*.

Znak	<i>D. carthusiana</i> var. <i>elevata</i>	<i>D. carthusiana</i> var. <i>exaltata</i>
Barva čepele	světle zelená nebo žlutozelená	tmavě zelená
Tvar čepele	výrazně úzká a dlouhá (4-5x delší než široká)	širší
Délka čepele vzhledem k délce řapíku	čepel < řapík	čepel > řapík
Vzdálenost lístečků	blízko u sebe	od sebe oddálené
Výskyt	rašelinné louky, rašeliníště, borové lesy	stinné lesy

Tabulka 3.2: Charakteristické znaky *D. carthusiana* var. *elevata* a *D. carthusiana* var. *exaltata* (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Piekos-Mirkowa 1979).

Rozlišování *D. dilatata* a *D. carthusiana* není příliš obtížné a s určitou erudicí se oba druhy dají rozeznat i dle charakteru trsu v terénu (Benl et Eschelmüller 1983).

Oproti tomu jsou si taxony *D. dilatata* a *D. expansa* z morfologického hlediska velice podobné, což značně ztěžuje jejich determinaci. To je také důvodem, proč nebyly dlouho odlišovány jako samostatné druhy. Dokonce i v některých herbářích jsou často zaměňovány, neboť jejich jednoznačné určení je možné jen na základě stanovení počtu chromozómů (cytologické analýzy). Právě proto jsou vyvíjeny neustálé snahy o nalezení takových morfologických znaků a jejich kombinací, které by umožnily rozlišení těchto problematických taxonů přímo v terénu.

V tabulce č. 3.3 jsou uvedeny charakteristické znaky používané pro determinaci druhů komplexu *Dryopteris dilatata*, které byly vybrány a utříděny

z publikací Květena ČSR (Chrtek 1988) a Klíč ke květeně ČR (Kubát et al. 2002).

Znak	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>
List			
Délka [cm] (řapík + čepel)	(15-) 25-80 (-90)	(12-) 20-60 (-150)	(10-) 15-50 (-120)
Šířka čepel [cm]	5-20 (-25)	(5-) 8-30 (-40)	(5-) 7-25 (-30)
Přezimování	+	+	-
Barva čepel	světle zelená až zelená	tmavozelená	světle zelená
Délka/šířka čepel	2-4 (-5) x delší než široká	1-2x delší než široká	1-2x delší než široká
Lístky	ploché, dolní podle vřetene pootočené, takže jejich čepel neležejí v rovině listu	zpravidla vyduté (hl. dolní), jejich čepel obvykle v rovině listu	všechny zpravidla ploché, jejich čepel obvykle v rovině listu
PU1/Pi*	menší než 0,5 Pi	zřetelně kratší než 0,5 Pi	0,4-0,6 x delší než Pi
Pleviny na řapíku a hlavním vřetení listu			
Barva	světle až tmavě hnědé, bez výrazného tmavšího středního pruhu	světle až tmavě hnědé, s výrazně tmavším stř. pruhem, který obvykle dosahuje do dlouze zašpičatělého vrcholu	světle až tmavě hnědé, s výrazně tmavším stř. pruhem, který obvykle dosahuje do dlouze zašpičatělého vrcholu
Velikost	nejvýše 1 cm dlouhé	delší než 1 cm	delší než 1 cm
Žláznatost			
Spodní strana čepel	nežláznatá nebo jen s ojedinělými žlázkami	roztroušeně žláznatá	roztroušeně žláznatá
Ostěry (<i>indusia</i>)	nežláznaté	se stopkatými žlázkami	se stopkatými žlázkami
Spory			
Barva	tmavohnědé	tmavohnědé	světle hnědé
Pouch	drobně ostnitě	hustě jemně osténkaté, ostny na bázi svými základy splývají	roztroušeně bradavčité, ostny na bázi svými základy nesplývají

Tabulka 3.3: Přehled charakteristických znaků jednotlivých druhů komplexu *D. dilatata* (Chrtek 1988, Kubát et al. 2002). U znaků, v jejichž hodnotách je mezi oběma autory rozpor, byla vždy dána přednost novějším pozorováním. *Poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku.

3.3.1 Přehled a charakteristika nejdůležitějších znaků uváděných v literatuře pro odlišení *D. carthusiana*, *D. dilatata* a *D. expansa*

Celkové morfologické charakteristice těchto tří taxonů se již věnuje velké množství rozličných publikací (Chrtek 1988, Dostál 1989, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984 aj.). Proto je tato část věnována pouze znakům, které jsou

obvykle uváděny v klíčích většího významu nebo se dle mnoha autorů jeví jako důležité pro identifikaci *D. carthusiana*, *D. dilatata* a *D. expansa*.

Oddenek (rhizom)

Na základě tohoto znaku je dle autorů (Crabbe, Jermy et Walker 1970, Jermy et Walker 1970, Widén, Sarvela et Ahti 1967) odlišována *D. carthusiana* od ostatních dvou taxonů následovně:

D. carthusiana má plazivý oddenek, který je řídce plevinatý.

D. dilatata a *D. expansa* mají přímý nebo vystoupavý oddenek, jenž je hustě pokrytý plevinami.

Z výzkumu polských exemplářů (Piekos-Mirkowa 1979) však vyplývá, že se jedná o znak velmi variabilní, podle kterého nelze jednotlivé druhy determinovat. Také Chrtek (1988) v morfologické charakteristice pro druh *D. carthusiana* uvádí, že může mít i vystoupavý oddenek.

Pleviny

U druhů komplexu *D. dilatata* se pleviny vyskytují na oddenku, řapíku i vřetení listu. Tvar, velikost a barva plevin se na základě předchozích studií jeví jako znak velmi variabilní, neboť záleží na části listu, kde se nacházejí (Crabbe, Jermy et Walker 1970, Gätzi 1966, Widén, Sarvela et Ahti 1967).

Z hlediska barvy se však v této skupině vyskytují dva druhy plevin:

jednobarevné – světlé, bez tmavého středního žebra (*D. carthusiana*)

dvoubarevné – s tmavým středním žebrem táhnoucím se do špičky nebo tmavou skvrnou na bázi (*D. dilatata*, *D. expansa*)

Jednobarevnost plevin *D. carthusiana* je mnohými autory (Chrtek 1988, Piekos-Mirkowa 1979 aj.) udávána jako jeden z nejlepších znaků pro odlišení od ostatních druhů, neboť *D. dilatata* a *D. expansa* mají pleviny jak s výrazným tmavým středním žebrem, tak i tmavou skvrnou na bázi. V literatuře se však objevují i zmínky o tom, že v severní Skandinávii jsou pleviny *D. expansa* jednobarevné a červenohnědé (Nannfeldt 1966, Widén, Sarvela et Ahti 1967). I Piekos-Mirkowa (1979) popisuje z vyšších poloh Tater několik vzorků s takovými plevinami.

Z hlediska velikosti se pleviny na řapíku velmi mění. Mnozí autoři udávají různé hodnoty, ale celkově lze na základě jejich výzkumů konstatovat, že pleviny *D. carthusiana* jsou menší než 1 cm, zatímco rostliny druhů *D. expansa* a *D. dilatata* tuto velikost spíše přesahují.

V hustotě plevin je patrný rozdíl opět pouze u *D. carthusiana*, která je má oproti ostatním druhům řidčeji (Jessen 1997, Piekos-Mirkowa 1979).

Porovnání tvaru plevin u jednotlivých druhů je uvedeno v tabulce č. 3.5 (kap. 3.4.1).

Délka listů

Plně vyvinuté listy taxonu *D. carthusiana* většinou dosahují délky do 90 (-100) cm, zatímco u ostatních druhů jsou obvykle větší než 1 m (Jessen 1997, Jessen et Rasbach 1987, Piekos-Mirkowa 1979 aj.). V tabulkách č. 3.3 a č. 3.5 jsou pro porovnání uvedeny hodnoty tohoto znaku pro jednotlivé druhy od různých autorů.

Poměr délky čepele k délce řapíku

Dle autorů publikace Flóra Švýcarska (Hess et al. 1967) odlišuje tento znak taxon *D. carthusiana* od ostatních dvou druhů, neboť má řapík stejně dlouhý nebo delší než čepel. Oproti tomu *D. dilatata* a *D. expansa* mají řapík podstatně kratší, který obvykle tvoří 1/3 nebo 3/4 délky čepele. Z výsledků studie v Polsku a na území Šumavy (Ekrt 2000, Piekos-Mirkowa 1979) však vyplývá, že *D. expansa* má více než 1,5 krát delší čepel než řapík a *D. carthusiana* 1,2-1,4 krát delší čepel než řapík. Tyto údaje vyvracejí i tvrzení Chrtka (Chrtek 1988), který u obou zmiňovaných druhů uvádí stejně dlouhý řapík jako čepel.

Tvar čepele

Tento znak je často popisován následovně: *D. carthusiana* má většinou úzce až vejčité kopinatou čepel, zatímco u *D. dilatata* a *D. expansa* je čepel vejčitá, široce vejčitá až trojúhelníkovitá (Chrtek 1988, Piekos-Mirkowa 1979). *D. expansa* má obvykle čepel širší, což ji pravděpodobně odlišuje od *D. dilatata*. Z hlediska poměru délky čepele k její šířce, stejně jako polohy nejširší části čepele byla u všech taxonů zjištěna velká variabilita (Piekos-Mirkowa 1979). Zatímco Chrtek (1988) udává pro *D. carthusiana* čepel 2-4 (-5) krát delší než širší, jiné výzkumy toto tvrzení vyvracejí a uvádějí pro tento druh čepel v průměru 2 krát delší než širší (Ekrt 2000, Piekos-Mirkowa 1979). V porovnání s *D. dilatata* a *D. expansa* (s čepelí 1-2 krát delší než širší), má však *D. carthusiana* v průměru čepel nejužší.

Barva čepele

Mnoho autorů (Crabbe, Jermy et Walker 1970, Hilmer 1996, Jessen et Rasbach 1987, Jessen 1997, Simon et Vida 1966 aj.) používá barvu čepele jako jeden z diagnostických znaků, který odlišuje tmavozelenou *D. dilatata* od světlezelené *D. expansa*. Tento znak je v terénu dosti výrazný, zvláště pokud se jedná o smíšenou populaci obou druhů, ale pro herbářované položky je nepoužitelný. Dle pozorování Piekos-Mirkowa (1979) je nutné také brát v úvahu skutečnost, že barva může záviset na stáří listu a bývá ovlivněna i světelnými podmínkami.

Zpeření čepele

Nejméně zpeřenou čepel má *D. carthusiana*, která je ve spodní části zpeřená třikrát, výše pouze dvakrát. Ostatní taxony se vyznačují třikrát až čtyřikrát zpeřenou čepelí, *D. expansa* je však zpeřená jemněji, což je nejvíce patrné při porovnání obou druhů vedle sebe (Benl et Eschelmüller 1983, Gätzi 1966, Piekos-Mirkowa 1979).

Tvar prostředního lístku

Tento znak uvádí již Crabbe et al. (Crabbe, Jermy et Walker 1970) jako významný, neboť poměr délky ku šířce tohoto lístku se jevil u *D. expansa* menší než u *D. dilatata*. Dle Piekos-Mirkowa (1979) má *D. expansa* tento lístek trojúhelníkovitý a nejčastěji 2,25-3 krát delší než široký, zatímco u *D. dilatata* je úzce trojúhelníkovitý a nejčastěji 2,5-3,5 krát delší než široký. Jak je z výše uvedených intervalů patrné, udávané hodnoty se překrývají, a proto není tento znak pro determinaci obou zmiňovaných druhů příliš vhodný.

Poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku

Jedním z nejčastěji uváděných znaků, podle kterého se určují druhy *D. dilatata* a *D. expansa*, je poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce celého nejspodnějšího lístku (Dostál 1989, Chrtek 1988, Jessen 1997, Kubát et al. 2002, Nardi 1976, Tyler 1996 aj.). Na obrázku č. 6.2 se jedná o poměr PU_1/P_i . Podle výše zmiňovaných autorů má *D. expansa* dolní bazální lísteček stejně dlouhý nebo o málo delší než polovina délky celého nejspodnějšího lístku. U *D. dilatata* je dolní bazální lísteček zřetelně kratší než polovina délky celého lístku. Simon et Vida (1966) kladli na tento znak takový důraz, že na jeho základě zrevidovali herbářové položky obou druhů a vytvořili mapu rozšíření *D. expansa* v několika částech Evropy. Významnost tohoto znaku však zpochybnila Piekos-Mirkowa (1979), protože hodnoty pro tento znak se u daných druhů někdy dosti překrývají. Ke stejným závěrům došli i Buchtová (1998) a Ekrt (2000). Tito autoři však zdůrazňují výrazný rozdíl v aritmetických průměrech tohoto parametru a tím i jeho význam pro determinaci těchto dvou druhů v kombinaci s dalšími znaky.

Poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku

Jedná se o další použitelný určovací znak, který však většinou nebývá uváděn v určovacích klíčích, ale slouží pro rozlišování druhů *D. dilatata*

a *D. expansa*⁶. Na obrázku č. 6.2 je označen jako poměr PU1/PU2. U *D. expansa* je dolní lísteček 2-2,5 krát delší než horní. To způsobuje zřetelnou asymetrii nejspodnějšího lístku. U *D. dilatata* není nejspodnější lístek tak asymetrický. Dolní lísteček nejspodnějšího lístku je totiž kratší než u *D. expansa* – nejčastěji (1,25-) 1,5-2 krát delší než horní lísteček (Dostál 1989, Ekrt 2000, Hilmer 1996, Piekos-Mirkowa 1979).

Tvar nejspodnějšího lístku

Tento znak je zčásti charakterizován poměrovými znaky uvedenými výše (PU1/Pi, PU1/PU2) a byl měřen na vzorcích jednotlivých taxonů z Polska (Piekos-Mirkowa 1979) s těmito výsledky: u *D. carthusiana* a *D. expansa* má nejspodnější lístek tvar nepravidelného širokého trojúhelníku a je 1,25-1,75 krát delší než široký. Oproti tomu u *D. dilatata* je tento lístek trojúhelníkovitý nebo vejčité-trojúhelníkovitý a nejčastěji 1,5-2,25 krát delší než široký. Z našeho území se přímo o tvaru nejspodnějšího lístku zmiňuje pouze Chrtek (1988), který pro *D. dilatata* uvádí, že dolní lístky má nápadně nesymetrické, vejčité, široce vejčité až vejčité trojúhelníkovité.

Úhel postavení nejspodnějších lístků

U nás se k tomuto znaku vyjadřuje pouze Kubát (Kubát et al. 2002), který uvádí, že u *D. carthusiana* jsou dolní lístky pootočené podle vřetene, takže čepel neleží v rovině listu. Přesněji je tato situace popisována z Německa, kde byl úhel postavení nejspodnějších lístků směrem k vřetení měřen u všech tří taxonů (Hilmer 1996). Z výsledků zmiňované studie vyplývá, že tento znak zřetelně odlišuje *D. expansa* od *D. dilatata*, neboť u *D. expansa* lístky směřují šikmo nahoru a svírají ostrý úhel v rozmezí 35-55 stupňů, zatímco u *D. dilatata* 65-85 stupňů (možno porovnat s odpovídajícím obrázkem č. 138, str. 154 - Fraser-Jenkins et Reichstein 1984). Na základě tohoto znaku však nelze odlišit *D. carthusiana*, protože má stejné poměry úhlů jako *D. expansa* (Page 1997).

Žláznatost

U druhů komplexu *D. dilatata* se žlázky mohou vyskytovat na řapíku, vřetení listu a lístcích spodní strany čepele, na okraji plevin nebo na indusiích. Absence žlázek u *D. carthusiana* je v mnoha publikacích (Dostál et Červenka 1984, Dostál 1989, Jessen et Rasbach 1987, Jessen 1997, Nannfeldt 1966, Schidlay 1966 aj.) uváděna jako jeden z klíčových znaků pro odlišení tohoto druhu od *D. dilatata* a *D. expansa*. Z oblasti Finska však existují zmínky o ojedinělém výskytu *D. carthusiana* se žláznatou

⁶Uvádí jej pouze Dostál 1989, Ekrt 2000 a Piekos-Mirkowa 1979.

čepelí (Widén, Sorsa et Sarvela 1970). Již dříve byla v rámci tohoto druhu vymezena var. *glandulosa* Milde, která měla žláznatý řapík, včetně listu i lístky na spodní straně čepele. Její výskyt byl však velmi vzácný (Domin 1942). Na americkém kontinentu měřil Tryon (Tryon et Britton 1966) počet žlázek na 1 mm délky spodní strany lístku, přičemž *D. carthusiana* zde měla v průměru 1,6 žlázek (rozmezí 0-9 žlázek). Také Viane (1986) uvádí, že všechny zkoumané vzorky *D. carthusiana* měli na spodní straně čepele několik žlázek⁷. V klíších a flórách posledních let (Chrtěk 1988, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Hörandl 1994, Jessen 2005 aj.) je u tohoto druhu vždy poznamenáno, že je nežláznatý nebo jen s ojedinělými žlázkami na spodní straně čepele. U ostatní dvou druhů, *D. dilatata* a především *D. expansa*, je hustota žlázek velmi variabilní. Pohybuje se od řídkých žlázek po velmi husté žlásky na spodní straně čepele a pro odlišení těchto taxonů nemá žádný význam (Piekos-Mirkowa 1979).

Jak je patrné z výše uvedených znaků, jednoznačné odlišení druhů komplexu *D. dilatata* na základě celkové morfologie je často velmi obtížné. Z tohoto důvodu se řada autorů (Britton 1968, 1972, Crabbe, Jermy et Walker 1970, Nannfeldt 1966, Piekos-Mirkowa 1979, Peroni et Peroni 1996, Sorsa 1964, Tyler 1996, Walker et Jermy 1964 aj.) zabývala analýzou kvalitativních a kvantitativních znaků spor i délkou stomat a zjišťovala spolehlivost těchto parametrů. Nutno však poznamenat, že určování taxonů probíhalo na základě jejich morfologie a může tedy být výrazně ovlivněno zkušenostmi a přístupem jednotlivých autorů.

Spory

Rod *Dryopteris* patří mezi leptosporangiální kapradiny. Jejich výtrusnice (sporangia) vznikají na abaxiální straně trofosporofylu periklinálním dělením z jediné buňky epidermis. Výtrusnicové kupky (sori) jsou kryty ostěrou (indusium). Výtrusy (spory) vznikají tetradogenezí, jsou nerozlišené (izospory) a monoletního typu⁸. V každé výtrusnici je 32-64 spor ledvinitého tvaru. Tmavá barva výtrusů je způsobena karoteny a sporopoleniny. Obal spory (sporoderma) se skládá z vnějšího exosporia (exina) a vnitřního tenkého endosporia (intina). Exosporium je mechanicky i chemicky velmi rezistentní a bývá označováno jako perisporium. Vnější vrstva perisporia se nazývá perinium (Futák 1966). Druhy komplexu *D. dilatata* mají toto perinium ostnité.

Někteří autoři (Crabbe, Jermy et Walker 1970, Nannfeldt 1966, Hilmer

⁷*D. carthusiana* sdílí společný genom s druhu *D. intermedia* agg., které mají hojně žláznatou čepel (Viane 1986).

⁸monoletní typ – lesura na vnitřní straně výtrusu ve čtveřici je jednoduchá, čárkovitá.

1996, Piekos-Mirkowa 1979) udávají, že barva spor a charakter povrchu perispor (hustota ostnů a jejich vzdálenost), jsou spolehlivým znakem pro determinaci jednotlivých taxonů, zatímco velikost spor již tak dobrým znakem není (Nardi 1976, Widén, Sarvela et Ahti 1967).

D. dilatata a *D. carthusiana* mají spory tmavohnědé barvy, zatímco u *D. expansa* jsou světle hnědé (Hilmer 1996, Jessen 1997, Tyler 1996).

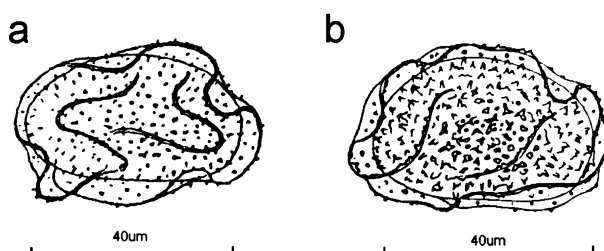
Crabbe et al. (Crabbe, Jermy et Walker 1970) hodnotí druhy na základě hustoty ostnů následovně:

D. dilatata - 50 % povrchu spor pokryto ostny.

D. expansa - 10-25 % povrchu spor pokryto ostny.

Také vzdálenost mezi jednotlivými ostny na sporách se zdá být významná. Již Walker et Jermy (1964) pozorovali u *D. dilatata* ostny, které na bázi splývají, zatímco u *D. expansa* tomu tak nebylo. Tyto výsledky potvrdil v nedávné době i Jessen (1997) ve své studii z oblasti Německa.

Značná variabilita však byla zjištěna u zakončení ostnů (ostře nebo tupě špičaté) a využití tohoto znaku pro určování druhů se jeví jako problematické. Literární údaje se v popisu zakončení ostnů velmi liší. Podle některých autorů (Hess et al. 1967, Jermy et Walker 1970, Melzer 1969, Nardi 1976) má *D. dilatata* ostny tupé, zatímco u *D. expansa* jsou ostré nebo zašpičatělé (viz obr. č. 3.2). Piekos-Mirkowa (1979) však uvádí, že u *D. dilatata* jsou ostny ve skutečnosti větší, a proto vypadají jako tupé, oproti ostnům *D. expansa*, která je má drobnější a tudíž se jeví jako ostré.



Obrázek 3.2: Znázornění ostnů na povrchu spor - a) *D. expansa* se špičatými ostny, b) *D. dilatata* s tupými ostny, kterých je mnohem více než u druhého taxonu (Jermy et Walker 1964).

Na severoamerickém kontinentu je určování druhů na základě morfologie spor poněkud odlišné, neboť populace druhů prodělaly rozdílný historický vývoj a je zde velmi velká variabilita. Někteří autoři mají na spolehlivost určování druhů na základě tohoto znaku zcela rozdílné názory. Na jedné

straně stojí tvrzení, že hustota a morfologie ostnů je mezi taxony i v jejich rámci dosti variabilní, a není tedy možné druhy komplexu *D. dilatata* (na základě spor) jednoznačně odlišit (Britton 1968, 1972). Na druhé straně Crane (1955, 1960) tvrdí, že dle znaků na sporách lze jednotlivé druhy jednoznačně identifikovat. Vypracoval dokonce klíč na jejich určování, založený na velikosti spor a zakončení ostnů.

Délka průduchů (stomat)

U všech zástupců r. *Dryopteris* se průduchy nacházejí pouze na spodní straně epidermis⁹. Stoma je tvořeno dvěma svěracími buňkami ledvinitého tvaru, které obsahují chloroplasty. Z hlediska anatomické stavby jsou průduchy kapradin podobné stomatům krytosemenných rostlin (především typu *Amaryllis*). Na rozdíl od nich se však při zvýšeném turgoru ve svěracích buňkách zkracují a mění protáhle podkovovitý tvar na široce podkovovitý, což vede k otevření průduchu.

Délka stomat je určena délkou svěracích buněk průduchů (Pazourek 1966). V komplexu *D. dilatata* se většinou výsledné hodnoty tohoto znaku u všech druhů překrývají, ale v průměru se liší výrazněji. Dle některých autorů (Buchtová 1998, Piekos-Mirkowa 1979, Tryon et Britton 1966, Widén et Britton 1971) je délka stomat korelována se stupněm ploidie, neboť dle jejich výsledků má diploidní *D. expansa* oproti tetraploidním druhům stomata menší. Proto je délka stomat uváděna jako důležitý anatomický znak pro determinaci herbářových položek *D. dilatata* a *D. expansa*, které nemají spory (Piekos-Mirkowa 1979). Zajímavé výsledky přinesl výzkum z oblasti Itálie (Peroni et Peroni 1996), kde byla měřena délka stomat i u *D. × ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*). Porovnání naměřených hodnot délek stomat je uvedeno v tab. č. 3.4

Autor	<i>D. dilatata</i>	<i>D. × ambroseae</i>	<i>D. expansa</i>	<i>D. carthusiana</i>
Piekos-Mirkowa (1979)	(45,5-) 54,3 (-66,5)	-	(35-) 47,6 (-59,5)	(49-) 57,1 (-70)
Buchtová (1998)	(45-) 52,9 (-60)	-	(42-) 49,5 (-59)	-
Jessen (1997)	(45-) 47-61 (-70)	-	(35-) 40-54 (-59)	(42-) 48-65 (-72)
Tryon et Britton (1966)	-	-	-	(44-) 55,7 (-68)
Tyler (1996)	53,2	-	46	-
Peroni et Peroni (1996)	(36-) 43,92 (-48)	(36-) 41,58 (-51)	(30-) 38,82 (-48)	-

Tabulka 3.4: Délky stomat [μm] udávané v různých publikacích.

⁹hypostomatický typ

3.4 Kříženci

Kromě hledání druhově-specifických morfologických znaků se pozornost botaniků soustředila i na studium mezidruhových hybridů (vč. jejich experimentální syntézy). Většina starších autorů (zhruba do počátku 20. století) existenci kříženců u kapradin zpochybňovala. Následným intenzivním výzkumem jak přírodních, tak také experimentálně vytvořených kříženců se však podařilo objasnit původ jednotlivých druhů (i hybridů samotných) a jejich příbuzenské vztahy a tím objasnit evoluci kapradin. Mezi první autory, kteří se touto problematikou zabývali, patřili Manton (1950) a Walker (1955).

V rámci čeledi *Dryopteridaceae* tvoří nejvíce hybridů r. *Dryopteris*. Jen ve střední Evropě bylo prokázáno pět různých kříženců tohoto rodu, kteří vznikají převážně hybridizací zástupců komplexu *Dryopteris dilatata*. Jejich rozlišení na základě morfologických znaků je velmi obtížné a bez cytologické kontroly mnohdy nemožné, neboť jsou morfologicky intermediární mezi rodiči. Nejdůležitějším znakem jsou špatně vyvinuté (abortované) tmavé spory, mnohdy nedozrálé v důsledku nepravidelné meiozy. Výtrusnice (sporangia) jsou většinou menší než u rodičovských druhů (2/3 a méně) a neotvírají se ani ke konci sezony¹⁰. Jinak mají kříženci obvykle stejný počet výtrusnicových kupek (sori) jako rodičovské druhy (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Chrtek 1988, Jessen 1997, Wagner et Chen 1965, Walker 1955).

Také je pravděpodobné, že hybridy, jejichž rodičovské druhy jsou si blízké příbuzné (mají společnou část genomu), vznikají snadněji a jsou hojnější (Fraser-Jenkins 1982, Jessen et Rasbach 1987).

3.4.1 Kříženci uvnitř komplexu *D. dilatata*

V této kapitole je uveden přehled a charakteristika mezidruhových kříženců, kteří vznikají hybridizací taxonů v rámci komplexu *D. dilatata*.

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × *dilatata* (Hoffm.) A. Gray = *Dryopteris* × *deweveri* (Jansen) Jansen et Wachter in Heukels, Geill. Schoolfl. Nederl., eD. 11: 93 (1934)

Syn. *Aspidium deweveri* Jansen (1932), *Lastrea glandulosa* Newman (1851), non *Dryopteris glandulosa* (Bl.) O. Ktze (1891), *Aspidium dilatatum* f. *intermedium* Warnst. (1906), *Dryopteris ambigua* Druce (1929), *Dryopteris* × *neglecta* Domin (1942), *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray subsp. *hybr. neglecta* (Domin) Dostál (1950)

¹⁰V té době je již většina sporangií u rodičovských druhů otevřena a spory vysypány.

Počet chromozómů Jedná se o tetraploidního hybrida ($2n=164$), který tvoří při meioze 41 bivalentů a 82 univalentů (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jessen et Rasbach 1987, Leonhards et al. 1990).

Morfologie Celkový charakter rostliny připomíná spíše *D. carthusiana*, ale pleviny jsou světle hnědé s tmavým středním žebrem nebo tmavou skvrnou na bázi a vřeteno listu je plevinatější. Také listy jsou větší (120 cm i více), méně tuhé a tmavěji zelené (Page 1997). Lístečky jsou lehce vyduťaté podobně jako u *D. dilatata*, zatímco *D. carthusiana* je má ploché (Leonhards et al. 1990). Spodní strana čepele, především vřeteno listu, je hustě žláznatá (Benl et Eschelmüller 1983, Jessen 1984). Také indusium a pleviny jsou lemované stopkatými žlázkami. Pleviny jsou 8-11 mm dlouhé a 2-3 mm široké (Widén, Sarvela et Ahti 1967). Spory jsou většinou abortované. Rozmnožuje se vegetativně (plazivými a větvicemi se oddenky) a vytváří velké kolonie. Roste i na místech, kde jeden z rodičovských druhů chybí (většinou *D. carthusiana*), neboť je zřejmě tolerantnější k sušším stanovištním podmínkám (Page 1997). Srovnání morfologických znaků tohoto křížence s rodičovskými druhy je uvedeno v tabulce č. 3.5 na konci této kapitoly.

Rozšíření Tento hybrid se vyskytuje ve všech částech Evropy, kromě mediteránních oblastí, ve kterých zcela chybí rodičovské druhy (Jalas et Suominen 1972). V následujících zemích existují alespoň sporadické důkazy nebo údaje o jeho výskytu: Velká Británie (Page 1997), Skandinávie (Widén, Sarvela et Ahti 1967), Holandsko, severní Španělsko, Francie, Belgie (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jessen et Rasbach 1987), Německo (Benl et Eschelmüller 1983, Jessen 1984, Leonhards et al. 1990), Polsko (Piekos-Mirkowa 1979), Rakousko a Švýcarsko (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jessen et Rasbach 1987). Celkově je však vzácnější než *D. × ambroseae*.

V České republice je dle Chrtka (Chrtek 1988) tento kříženec nejčastější, rozšířený po celém území, na některých lokalitách dokonce hojnější než rodičovské druhy. Dostál (1989) jej uvádí ze Mšena, Děčína a Moravského krasu.

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***expansa*** (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy = ***Dryopteris*** × ***sarvelae*** Fraser-Jenkins et Jermy, Fern Gaz. 11 (5): 339 (1977)

Syn. *D. assimilis* × *carthusiana* Jermy et Walker (1975)

Počet chromozómů Triploidní hybrid ($2n=123$), při meioze tvoří pouze univalenty (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jessen et Rasbach 1987). Cytologické výzkumy tohoto křížence (Gibby et Walker 1977) objasnili

příbuzenské vztahy druhů komplexu *D. dilatata* (má tři odlišné nehomologické genomy, proto *D. expansa* nemůže být předkem *D. carthusiana*).

Morfologie Rostliny jsou intermediární mezi rodičovskými druhy, neboť představují kombinaci jemně dělených lístečků (*D. expansa*) s více ostnitě zubatými okraji lístků a lístečků (*D. carthusiana*) (Page 1997). Oddenek je většinou vystoupavý jako u *D. carthusiana*, ale hustě plevinatý. Listy jsou obvykle 70 (-100) cm dlouhé. Čepel je na spodní straně poměrně hustě žláznatá jako u *D. expansa*. Žlásky se v menší míře objevují i na řapíku, větvení listu a indusiích, ale na plevinách chybí (Jessen et Rasbach 1987, Page 1997, Widén, Sarvela et Ahti 1967). Pleviny jsou podobné *D. carthusiana*, 8-11 mm dlouhé, 5-6 mm široké, světlehnědé, někdy však s tmavou skvrnou na bázi. Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku není tak nápadně vyvinutý jako u *D. expansa*. Spory jsou zcela abortované, ale tento znak neumožňuje odlišení od *D. × deweveri* a *D. × ambroseae*. Pro jistější určení lze sledovat párování chromozómů během první metafáze meiozy, kdy vytváří pouze univalenty¹¹ (Corley et Gibby 1981, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984). Přehled charakteristických znaků tohoto hybridu v porovnání s rodičovskými druhy je uveden v tabulce č. 3.5.

Rozšíření Ještě dříve, než byla potvrzena existence tohoto křížence v přírodě, byl vypěstován experimentálně (Walker 1955). První nálezy pocházejí z jihozápadního Finska (Sorsa et Widén 1968), hojně se vyskytuje i ve Skotsku (Corley et Gibby 1981). Ve střední Evropě je znám pouze z německé Rujány, neboť rodičovské druhy se zde zřejmě nevyskytují tak často ve smíšených populacích jako např. v severní Evropě (Jessen et Rasbach 1987). Údaje o výskytu v Polsku a Švýcarsku jsou chybné, neboť při mapování došlo k jeho záměně s druhy *D. expansa* a *D. × deweveri* (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

V České republice nebyl tento kříženec dosud zaznamenán (Dostál 1989, Chrtěk 1988, Kubát et al. 2002).

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***expansa*** (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy = ***Dryopteris*** × ***ambroseae*** Fraser-Jenkins et Jermy, Fern Gaz. 11 (5): 338 - 339 (1977)

Syn. *D. aemula* × *dilatata* aggr. Jermy (1968), *D. aemula* × *assimilis* Jermy et Walker (1975)

¹¹*D. × ambroseae* vytváří stejný počet bivalentů i univalentů, *D. × deweveri* tvoří 41 bivalentů a 82 univalentů.

Počet chromozómů Jedná se o triploidní hybrid ($2n=123$), který při meioze tvoří 41 bivalentů a 41 univalentů (Gätzi 1964, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jessen et Rasbach 1987).

Morfologie Rostliny jsou obvykle intermediární mezi rodičovskými druhy, obyčejně však dosahují většího vzrůstu. Rodičovskému druhu *D. dilatata* se podobají tmavozelenou barvou čepele a plevinami s tmavým středním žebrem (ne vždy však sahá až do špičky). Lístky jsou jemněji dělené jako u *D. expansa*. Řapík, spodní strana čepele, vřeteno listu i indusium jsou hustě žláznaté¹². Pleviny jsou 19-20 mm dlouhé, 3-6 mm široké a stejně jako indusium lemované stopkatými žlázkami. Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je většinou velmi dlouhý jako u *D. expansa*. Spory jsou zcela abortované se silným tmavým perisporem (Peroni et Peroni 1996, Piekos 1974, Widén, Sarvela et Ahti 1967). V přírodě může být, kromě rodičovských druhů, zaměňován s *D. × deweveri*, který má také abortované spory. Od *D. × ambroseae* se však odlišuje světleji zelenou čepelí a krátkým dolním bazálním lístečkem - viz tabulka č. 3.5 (Fraser-Jenkins 1977a, Page 1997). Je téměř sterilní, rozmnožovat se může (lokálně) pouze vegetativním způsobem - větvením oddenku vytváří klony (Benl et Eschelmüller 1983). Ve smíšených populacích vzniká snadno a byl vytvořen i experimentálně (Walker 1955).

Rozšíření Výskyt tohoto křížence byl zaznamenán v těchto zemích:

Německo (Benl et Eschelmüller 1970, 1983, Jessen 1984), Rakousko (Fraser-Jenkins 1979), Švýcarsko (Döpp et Gätzi 1964), Polsko (Piekos 1974), Itálie (Peroni et Peroni 1996), Španělsko (Fraser-Jenkins 1982), Velká Británie (Crabbe, Jermy et Walker 1970, Page 1997), Finsko (Sorsa et Widén 1968, Widén, Sarvela et Ahti 1967), Norsko (Widén, Sorsa et Sarvela 1970), Švédsko (Fraser-Jenkins 1979), Francie, Belgie, sev. Turecko a Kavkaz (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984). Pravděpodobně se vyskytuje i na dalších místech, kde jsou smíšené populace *D. expansa* a *D. dilatata*.

V České republice je tento hybrid uváděn pouze z lokality Mehelník u Písku (Dostál 1989, Chrtek 1988).

¹²Někteří autoři (Benl et Eschelmüller 1983, Döpp et Gätzi 1964) uvádí, že spodní strana čepele a vřeteno listu tohoto křížence jsou žlázkami pokryty řídce. Podobná situace je i u *D. × deweveri*, pro kterou Widén et al. (Widén, Sarvela et Ahti 1967) udávají, že žlázky na spodní straně čepele a vřetení jsou rozmístěny řídce, zatímco indusia jsou hustě žláznatá.

Znak	<i>D. dilatata</i>	<i>D. x deweveri</i>	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. x sarvelae</i>	<i>D. expansa</i>	<i>D. x ambroseae</i>
Délka listu	100 (-150) cm	70 (-120) cm	60 (-80) cm	70 (-100) cm	100 (-150) cm	60 (-150) cm
Barva čepele	většinou tmavě zelená listy chabé, obloukovitě prohnuté	žlutozelená až tmavě zelená listy vzpřímené až obloukovitě prohnuté	žlutozelená až zelená listy vzpřímené, tuhé	žlutozelená až světlezelená listy většinou vzpřímené	světlezelená až žlutozelená listy většinou vzpřímené	většinou tmavozelená listy obloukovitě prohnuté
Dolní bazální listéček nejspodnějšího listku	většinou krátký, < 1/2 nejspodnějšího listku	většinou < 1/2 nejspodnějšího listku	většinou < 1/2 nejspodnějšího listku	většinou < 1/2 nejspodnějšího listku, někdy ale nápadně dlouhý	nápadně dlouhý, $\geq 1/2$ nejspodnějšího listku	nápadně dlouhý, $\geq 1/2$ nejspodnějšího listku
Hustota plevin	hojné	méně hojné	řidké	méně hojné	hojné	hojné
Tvar a barva plevin	+/- kopinaté, na vrcholu dlouze zašpicátělé, s tmavým středním žebrem	oválné až kopinaté, často s tmavou skvrnou na bázi, zřídka jednobarevné nebo s tmavým středním žebrem	oválné až vejčité-kopinaté, na vrcholu krátce zašpicátělé, světle hnědé	oválné až vejčité-kopinaté, na vrcholu většinou krátce zašpicátělé, jednobarevné světle hnědé až červenohnědé, někdy s tmavou skvrnou na bázi	+/- kopinaté, na vrcholu dlouze zašpicátělé, většinou s tmavým středním žebrem	často s tmavým středním žebrem nebo skvrnou na bázi
Velikost plevin	do 20 mm	8 - 11 mm	do 8 mm	8 - 11 mm	do 18 mm	19-20 mm
Zlásky na spodní straně čepele a indusiu	+	+	-	+	+	+
Spory	tmavěhnědé, normálně vyvinuté	abortované	tmavěhnědé, normálně vyvinuté	abortované	světlehnědé, normálně vyvinuté	abortované
Počet chromosomů, ploidie	2n=164 (n=82 ^{II}) allotetraploid	2n=164 (n=41 ^I + 82 ^{II}) tetraploid	2n=164 (n=82 ^{II}) allotetraploid	2n=123 (n=123 ^I) triploid	2n=82 (n=41 ^{II}) diploid	2n=123 (n=41 ^I + 41 ^{II}) triploid

Tabulka 3.5: Přehled charakteristických znaků pro rozlišení kříženců *D. x deweveri* a *D. x sarvelae* od rodičovských druhů (Jessen et Rasbach 1987, Leonhards et al. 1990). Do tabulky byly dodatečně doplněny údaje o *D. x ambroseae* (Benl et Eschelmüller 1983, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Page 1997, Widén, Sarvela et Ahti 1967).

3.4.2 Kříženci s jinými druhy rodu *Dryopteris*

V Evropě byli zaznamenáni následující hybridní kombinace:

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***felix-mas*** (L.) Schott = ***Dryopteris*** × ***brathaica*** Fraser-Jenkins et Reichstein

Syn. *Lastrea remota* (A. Br.) Moore (1860), non *D. remota* (A. Br. ex Döll) Druce (1860)

Hybrid je tetraploidní ($2n = 164$, při meióze se tvoří pouze univalenty), sterilní a jeho spory jsou zcela abortované (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jermy et Walker 1975).

Od *D. carthusiana* se liší především kulatějšími lístečky, většími výtrusnicovými kupkami a silnějším, plevinatějším řapíkem a větvenem listu. Vzhledem k morfologicky velmi rozdílným rodičům jsou kříženci poměrně dobře odlišitelní (Page 1982). Tento hybrid je také velice podobný *Dryopteris remota*, pod jejímž jménem byl i dříve uváděn, ale na rozdíl od ní má méně žlutozelené mladé listy a větveno na bázi lístku není nikdy černofialově zbarvené. Také dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je vždy kratší než 25 mm (u *D. remota* je většinou delší).

První nálezy pocházejí z Anglie a od té doby se pěstuje v různých botanických zahradách (Fraser-Jenkins 1977b, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***affinis*** (Lowe) Fraser-Jenkins

Syn. *Lastrea nitens* v. Tavel (1934), *Dryopteris* × *doeppii* Rothmaler (1945), *D. austriaca* ssp. *spinulosa* × *borreri* Lawalrée (1950)

Tento kříženec je zřejmě tetraploidní nebo pentaploidní s velmi redukovanou plodností. Pravděpodobně se rozmnožuje apomikticky a jeho spory jsou většinou abortované. Jeho výskyt v přírodě však dosud nebyl potvrzen (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***cristata*** (L.) A. Gray = ***Dryopteris*** × ***uliginosa*** (A. Braun ex Döll) Druce

Syn. *Lastrea uliginosa* (A. Br. ex Döll) Newman (1849), *Aspidium spinulosum* (Müll. ex Roth) Schwartz ssp. *tauschii*, Čelak. (1869), *Dryopteris cristata* × *spinulosa* Druce (1908), *Dryopteris tauschii* (Čelak.) Domin (1936), *Dryopteris laschii* Walter (1939)

Tento hybrid se obvykle vyskytuje na stanovištích s oběma rodičovskými druhy. Je tetraploidní ($2n = 164$, v meióze tvoří 41 bivalentů a 82 univalentů) a má zcela abortované spory. Oproti *D. cristata* je větší, fertillní listy

připomínají *D. carthusiana* a jsou jen velmi zřídka žláznaté (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jermy et Walker 1975, Page 1982, Walker 1955).

Známy jsou následující oblasti rozšíření: Norsko, Švédsko, Finsko, Dánsko, Velká Británie, Holandsko, Belgie, sev. Francie, Německo, Švýcarsko, Rakousko, Maďarsko, Polsko, Česká republika (sev. a již. Čechy¹³, Morava), Slovensko, Rusko a západní Sibiř a také Severní Amerika a západní Asie (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Jessen et Rasbach 1987). S odvodňováním mnohých oblastí však tento kříženec na mnoha lokalitách mizí.

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***oreades*** Fomin

Syn. *D. abbreviata* × *spinulosa* Rothmaler (1963)

Vzácný triploidní hybrid ($2n = 123$) s úplně abortovanými sporami, jehož existence není spolehlivě doložena (Fraser-Jenkins 1984).

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***felix-mas*** (L.) Schott

Syn. *Aspidium remotum* var. *subalpinum* Borbás (1876); *Dryopteris* × *borbasii* Litardiére (1909); *Dryopteris subaustriaca* Rothmaler (1945)

Tento hybrid je tetraploid ($2n = 164$) se zcela abortovanými sporami. Často bývá zaměňován s *D. dilatata*, *D. felix-mas* f. *erosa* nebo triploidním druhem *D. remota*. Z tohoto důvodu není rozšíření tohoto křížence ve střední Evropě příliš známo (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***affinis*** subsp. ***affinis*** (Lowe)

Fraser-Jenkins = ***Dryopteris*** × ***fraser-jenkinsii*** Gibby et Widén

Syn. *Lastrea elata* Kestner et v. Tavel (1934), *Dryopteris* × *woynarii* Rothmaler (1945), *Dryopteris kemulariae* Mikheladze (1963)

Tento hybrid je považován za tetraploida nebo pentaploida, který se pravděpodobně rozmnožuje apomikticky. Jeho spory jsou převážně abortované a plodnost silně redukována (Fraser-Jenkins 1982, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984). Je velmi podobný *D. dilatata*, ale na větvení listu má více plevin a méně dělené lístky (Jermy et Walker 1975). Často bývá zaměňován s *D. remota*, a proto údaje o jeho rozšíření chybí (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***crinata*** (L.) A. Gray = ***Dryopteris*** × ***hercynica*** Rothmaler

Existence tohoto zřejmě tetraploidního hybridu ($2n = 164$) se zcela abortovanými sporami není spolehlivě doložena (Fraser-Jenkins et Reichstein

¹³např. Dokesko, Třeboňská pánev (Chrtek 1988)

1984). V České republice se o něm zmiňuje Dostál (1989) a uvádí následující lokality: Stráž nad Nežárkou, Šumava, Krkonoše, Jeseníky. Výskyt je však třeba dle autora experimentálně ověřit.

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***oreades*** Fomin

Syn. *D. abbreviata* × *dilatata* Rothmaler (1963)

Je zmiňován v literatuře jako možný hybrid, ale jeho existence není ověřena (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***villarii*** (Bell.) Wyonar ex Schinz et Thell.

Syn. *Dryopteris* × *burnatii* Christ et Wilczek (1913), pro *D. dilatata* × *rigida*

Tento kříženec byl popsán na základě herbářových položek z Francie a Švýcarska, které se však ztratily. Existují jen fotografie, podle kterých se spíše jedná o druh *D. villarii*. Další výskyt tohoto vzácného hybridu nebyl dosud prokázán (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris expansa (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy × ***affinis*** subsp. ***affinis*** (Lowe) Fraser-Jenkins = ***Dryopteris remota*** (A. Braun ex Döll) Druce

Syn. *Aspidium rigidum* var. *remotum* A. Braun ex Döll (1843); *Dryopteris assimilis* × *pseudomas* Benl et Eschelmüller (1973), Jermy et Walker (1975)

Tento kříženec vzniká hybridizací *D. expansa* ♀ × *D. affinis* subsp. *affinis* ♂. Je považován za samostatný druh (triploidní, 2n = 123), který má spory abortované pouze zčásti (zčásti dobře vyvinuté) a je apogamický (Benl et Eschelmüller 1973, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Od *Dryopteris expansa* se odlišuje v následujících znacích: čepel je užší, větveno na bázi lístků je vždy černofialově zbarvené a pleviny jsou světlé, pouze na bázi tmavohnědé (Kubát et al. 2002).

Z fytochemického hlediska obsahuje tento hybrid unikátní floroglucid trispara-aspidin¹⁴ (Widén, Euv et Reichstein 1970). Byl také studován pomocí izozymů a analýzou RAPD¹⁵ (Schneller et al. 1998).

Je rozšířen od severního Španělska až po Kavkaz a od severní Itálie po Britské ostrovy. Nejhojnější je však ve střední Evropě (Beck 1998, Benl et Eschelmüller 1973, Fraser-Jenkins 1982, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Horn, Diewald et Hoffmann 1999). V České republice je udáván z okolí Brna

¹⁴tricyklický floroglucid $C_{36}H_{44}O_{12}$

¹⁵random amplified polymorphic DNA

– Moravský kras¹⁶ (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984), další možný výskyt lze očekávat na Šumavě (Kubát et al. 2002).

Severní Amerika:

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***intermedia*** (Muhl.) A. Gray = ***Dryopteris*** × ***triploidea*** Wherry

Syn. *D. spinulosa* var. *fructuosa* Gilbert (1900)

Hojně se vyskytující sterilní, triploidní hybrid ($2n = 123$) s abortovnými sporama a žláznatým indusiem. Byl vytvořen i experimentálně (Gibby et Walker 1977, Werth 1991, Wherry 1960). Walker (1961) na základě sledování párování chromozómů v průběhu meiozy u tohoto hybrida zjistil, že oba rodičovské druhy sdílejí společný genom (tvoří 41 bivalentů a 41 univalentů). Proto je *D. carthusiana* považována za allopolyploida s *D. intermedia*. Morfologickými rozdíly tohoto křížence oproti rodičovským druhům se zabývali Tryon et Britton (1966).

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***marginalis*** (L.) Gray = ***Dryopteris*** × ***pittsfordensis*** Slosson

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***celsa*** Palmer, Knowlton, Palmer et Pollard

Oba rodičovské druhy jsou tetraploidní a zkoumání meiozy v tomto domnělém hybridu ukázalo většinou nepárové chromozómy (Gibby et Walker 1977).

Azorské ostrovy:

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***azorica*** (Christ) Alston = ***Dryopteris*** × ***sjoegrenii*** Fraser-Jenkins

Nálezy pocházejí pouze z ostrova Pico. Cytotyp tohoto křížence není znám (zřejmě je triploidní, $2n=123$), jeho spory jsou abortované (Fraser-Jenkins 1982).

Dryopteris dilatata (Hoffm.) A. Gray × ***crispifolia*** Rasbach, Reichstein et Vida = ***Dryopteris*** × ***telesii*** Fraser-Jenkins

Tento hybrid byl nalezen jen na severní straně ostrova Pico. Má abortované spory a jeho cytotyp je neznámý¹⁷ (Fraser-Jenkins 1982).

¹⁶mylně uváděn jako *D. × bohemica* Domin

¹⁷předpokládá se, že je tetraploidní

3.4.3 Kříženci vytvoření experimentální hybridizací

Některé druhy komplexu *D. dilatata* byly podrobeny hybridizačním experimentům, při kterých se hodnotila plodnost a životaschopnost získaných kříženců. Nový pohled na původ a příbuzenské vztahy jednotlivých druhů pak poskytla analýza párování chromozómů během meiózy u severoamerických uměle vytvořených hybridů (Gibby et Walker 1977).

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***remota*** (A. Br. Döll)
Druce

Tento experimentálně vytvořený hybrid je pentaploidní ($2n = 205$). Rostliny jsou však velmi malé a hynou dříve, než se vytvoří sporangia (Döpp 1939, Fraser-Jenkins et Reichstein 1984).

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***azorica*** (Christ) Alston

Triploidní hybrid ($2n = 123$) (Gibby et Walker 1977). Jeden z rodičovských druhů - diploidní *D. azorica* - je endemitem Azorských ostrovů.

Dryopteris carthusiana (Vill.) H. P. Fuchs × ***intermedia*** subsp. ***maderensis*** (Alston) Fraser-Jenkins

Triploidní hybrid ($2n = 123$). *D. intermedia* subsp. *maderensis* (syn. *D. maderensis*) je endemitem Madeirských ostrovů. Má stejný genom jako *D. intermedia* (subsp. *intermedia*) a *D. azorica*, a proto tyto 3 druhy patří do skupiny *D. intermedia* agg. (Gibby et Walker 1977).

Dryopteris expansa (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy × ***intermedia*** subsp. ***intermedia*** (Muhl.) A. Gray

Diploidní hybrid ($2n = 82$) s nízkým stupněm párování chromozómů během meiozy (Gibby et Walker 1977).

Dryopteris expansa (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy × ***azorica*** (Christ) Alston

Tento hybrid je diploidní ($2n = 82$) (Gibby et Walker 1977).

3.5 Fytochemie

Zajímavé výsledky ve skupině *D. dilatata* přinesl fytochemický výzkum, který umožnil lepší pochopení fylogenetických vztahů a upřesnění taxonomických otázek (Britton et Widén 1974, Widén et Britton 1969, 1971, Widén et Sorsa 1968, Widén, Sorsa et Sarvela 1970, Widén, Sarvela et Britton 1983, Widén et Fraser-Jenkins 1999).

Studie ukázaly, že pomocí chromatografických metod je možné odlišit druh *D. dilatata* od *D. expansa*. Umožňuje to přítomnost určitého množství specifických fenolických butanonfloroglucinolů (floroglucinolové deriváty), které se nacházejí v idioblastech¹⁸ rostlin. Nejdůležitější odlišovací charakteristiky pro oba druhy jsou uvedeny v tabulce č. 3.6.

fenolická látka	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>
floroglucinol	stabilní množství	stabilní množství
desaspidin	chybí	malé množství
tridesaspidin	chybí	malé množství
flavaspidicin	málo	málo
floropyron	málo	velké množství

Tabulka 3.6: Přehled fenolických látek *D. dilatata* a *D. expansa* (Widén et Britton 1969).

Na základě chromatografie a morfologické podobnosti s evropským druhem, byl potvrzen výskyt *D. expansa* i v Severní Americe¹⁹ (Britton et Widén 1974, Widén et Britton 1969, 1970).

Dle některých autorů (Benl et Eschemüller 1983, Widén, Sorsa et Sarvela 1970) lze v komplexu *Dryopteris dilatata* podle obsahu desaspidinu a tridesaspidinu odlišit i křížence. Narozdíl od *D. × deweveri* (*D. dilatata* × *carthusiana*) neobsahuje *D. × ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*) ani jednu z těchto dvou složek, neboť desaspidin i tridesaspidin pochází převážně od *D. carthusiana*. Tento druh má podobné fytochemické složení jako *D. intermedia* (velké množství paraspidinu, méně desaspidinu a tridesaspidinu), což potvrzuje výsledky cytologických studií mnohých autorů (Walker 1955, 1961, Widén et Sorsa 1968 aj.) o příbuznosti těchto dvou druhů, které zřejmě sdílejí společný genom (více viz kapitola 3.2).

Přítomnost aspidinu a filixových kyselin je významná i z taxonomického hlediska pro odlišení skupin r. *Dryopteris* (Widén et al. 1999). Komplex

¹⁸tj. buňky lišící se obsahem, tvarem nebo zorkovatěním buněčné stěny od ostatních, hromadí se v nich pryskyřice, silice, alkaloidy aj., někdy jsou jimi i vylučovány.

¹⁹Původně byla označována jako východní a západní diploidní cytotyp *D. dilatata*.

D. dilatata obsahuje pouze aspidin, zatímco komplex *D. filix-mas* má filixové kyseliny, které u *D. dilatata* ani u *D. expansa* nebyly prokázány.

Fenolické sloučeniny obsažené v oddencích zástupců r. *Dryopteris* byly již od starověku využívány i pro praktické účely. Etherový extrakt *D. expansa* z jižního Finska („*Extractum dryopteridis austriacea Alb. Koponen Oy*“) se používal jako nejefektivnější lék proti endoparazitům (Britton et Widén 1973, Chrtek 1988). V roce 1996 byly u aspidinu a desaspidinu prokázány i protinádorové účinky (Widén et al. 1999).

3.6 Ekologie a rozšíření jednotlivých druhů

Znalost rozšíření a ekologie určitého druhu patří, stejně jako morfologické znaky, k jeho základním charakteristikám a je nedílnou součástí jeho taxonomického vymezení. U blízce příbuzných druhů může dokonce napomoci v jejich determinaci. Jako příklad lze uvést ekologickou diferenciaci v rámci r. *Asplenium*, kdy dvě třetiny evropských taxonů jsou kalcifilní, jedna třetina zpravidla striktně kalcifóbní a tři taxony se omezují téměř výhradně na hadcové substráty (Vogel et al. 1999).

Většina druhů však takto jednoznačně vyhraněná není a vyskytuje se v široké amplitudě ekologických podmínek s optimem výskytu v určitém rozmezí tohoto spektra. Stejně je tomu i u druhů komplexu *D. dilatata*, které se sice zčásti liší svými areály výskytu, ale mají široké spektrum společenstev, do kterých více či méně zasahují. Především se jedná o vlhká humózní lesní společenstva z řádů *Fagetalia sylvaticae* (svaz *Eu-Fagion*) a *Piceetalia excelsae* (svaz *Piceion excelsae*), jakož i bažinných olšin řádu *Alnetalia glutinosae* (svaz *Alnion glutinosae*) (Jirásek 1996, Moravec et al. 1995, Neuhäuslová et al. 1998). Výše zmíněné přehledy rostlinných společenstev našeho území však zcela opomíjejí druh *D. expansa*, a proto je třeba brát je s rezervou. Rozšíření jednotlivých druhů na našem území i ve světě a jejich ekologické nároky jsou podrobně rozebrány v následujících odstavcích.

D. carthusiana

Jedná se o eurosibiřsko-severoamerický druh. V Evropě dosahuje až 70. stupně severní zeměpisné šířky, jeho severní hranice prochází přes Skotsko, Skandinávii (kromě její nejsevernější části) a Sibiř. Jižní hranice vede severním Španělskem, Francií, severní Itálií, Řeckem až po Kavkaz. Kromě části Malé Asie se ještě vyskytuje ve východní a střední části Severní Ameriky (Hultén et Fries 1986, Chrtek 1988, Jalas et Suominen 1972).

V České republice je *D. carthusiana* hojně rozšířena téměř na celém

území, především v kolinním a suprakolinním stupni²⁰. Jinak se vyskytuje roztroušeně od nížin do hor, v nejvyšších horských polohách však většinou chybí. Nejvyšší uváděnou lokalitou na území České republiky jsou Růžohorky v Krkonoších s nadm. výškou 1200 m n m (Chrtek 1988). Z území Šumavy a Předšumaví je udávána především z nižších poloh o nadmořské výšce 400 - 900 m n m, ale výjimkou nejsou ani lokality z 1100 m n m (Ekrt 2000).

Z celého komplexu má tento taxon nejširší ekologickou amplitudu. Roste na různých půdách a v četných lesních společenstvech listnatých, jehličnatých a smíšených lesů. Toleruje vlhčí stanoviště než ostatní dva druhy. Nejčastěji se nachází ve vlhkých humózních, často lužních nebo suťových, lesích a bučinách nebo na březích potoků a rybníků. Je diagnostickým druhem biotopu vlhkých acidofilních doubrav (L7.2 - Chytrý et al. 2001), svazu *Betulion pubescentis* a těchto asociací:

Carici-elongatae-Alnetum (sv. *Alnion glutinosae*)

Dentario glandulosae-Fagetum (sv. *Eu-Fagion*)

Deschampsio flexuosae-Abietetum (sv. *Luzulo-Fagion*)

Dále se často vyskytuje ve společenstvech řádu *Fagetalia sylvaticae* a svazů *Alnion glutinosae* (mokřadní olšiny), *Sambuco-Salicion caprae* a *Genisto germanicae-Quercion* (Chytrý et al. 2001, Chrtek 1988, Moravec et al. 1995, Neuhäuslová et al. 1998).

D. dilatata

Rozšíření tohoto druhu je subatlantického charakteru. Jeho výskyt je omezen na Evropu, kde je nejhojnější, Kavkaz a severní část Malé Asie. Nejsevernější hranice výskytu prochází severozápadní Skandinávii. Jižní hranice probíhá přes Portugalsko, Španělsko, jižní Francii, Itálii, bývalou Jugoslávii a Bulharsko (Hultén et Fries 1986, Chrtek 1988, Piekos-Mirkowa 1979, 1993, Reichstein 1997). Vzhledem k záměnám tohoto druhu s *D. expansa* není možné brát v úvahu znázornění jeho rozšíření v publikaci Atlas florae europaea (Jalas et Suominen 1972), neboť část lokalit patří *D. expansa*. V Severní Americe je *D. dilatata* nahrazena allotetraploidním druhem *D. campyloptera*, který má stejné předky jako evropský taxon, ale v morfologických znacích se ještě více podobá *D. expansa* (Fraser-Jenkins 1982, Gibby 1977).

D. dilatata je rozšířena na celém území České republiky od planárního do subalpínského stupně²¹. V oreofytiku a ve vyšších polohách mezofytika je dosti hojná, v termofytiku se vyskytuje vzácněji nebo zcela chybí (velká část jižní Moravy - Slavík 1986). Chrtek (1988) však uvádí, že na vhod-

²⁰kolinní stupeň - pahorkatina, 135-500(-740) m n m; suprakolinní stupeň - kopcovina, 200-650 mnm

²¹planární stupeň - nížina, 150-210 (240) m n m; subalpínský stupeň - nižší vysokohory, 1200-1602 m n m

ných stanovištích může vytvářet početné populace i v termofytiku (např. střední Polabí). Nejvýše položená lokalita je udávána z Krkonoš (Výrovka, 1360 m n m). Na Šumavě je velmi hojná od 515 - 1320 m n m (Ekrt 2000).

D. dilatata je druhem zejména smrkových a bukových horských lesů, nalézá se i v kosodřevině, na kamenitých vlhkých svazích, úpatích skal a ve vlhkých humózních lesích nížin. Je diagnostickým druhem těchto biotopů (Chytrý et al. 2001):

Štěrbínová vegetace silikátových skal a drovin (S1.2.)

Vysokostébelné trávníky skalních terásěk (S1.3.)

Z hlediska fytoecologie (Jirásek 1996, Moravec et al. 1995, Neuhäuslová et al. 1998, Procházka) je považována za diagnostický druh svazu *Luzulo-Fagion* a asociací:

*Calamagrostio villosae-Piceetum*²² (sv. *Piceion excelsae*)

*Dryopterido dilatatae-Piceetum*²³ (sv. *Piceion excelsae*)

*Athyrio alpestris-Piceetum*²⁴ (sv. *Athyrio alpestris-Piceion*)

Často se nachází i ve společenstvech svazů *Eu-Fagion* a řádu *Adenostyletalia* (Chrtek 1988, Moravec et al. 1995).

D. expansa

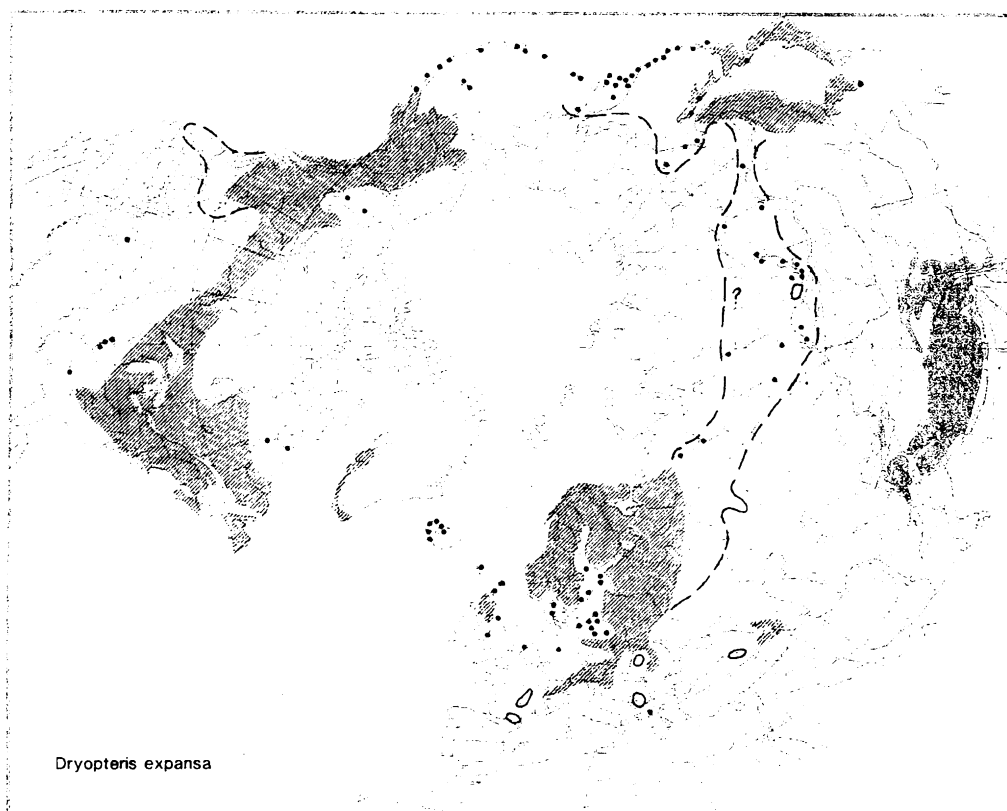
Jak je patrné z obrázku č. 3.3, jedná se o cirkumpolární druh, který je široce rozšířen v Evropě, Asii, na Kavkazu i v Severní Americe (Hultén et Fries 1986, Piekos-Mirkowa 1993). V Evropě dosahuje k 71. stupni severní zeměpisné šířky a dle dosavadních výzkumů je znám z následujících zemí: Velká Británie (Page 1997), Skandinávie (Widén, Sarvela et Ahti 1967), Holandsko (Viane et Bremer 1990), Francie, Španělsko (Fraser-Jenkins 1982), Itálie (Peroni et Peroni 1996), Německo (Hilmer 1966, Horn, Diewald et Hoffmann 1999, Jessen 1997), Rakousko, Švýcarsko (Gätzi 1966), Polsko (Piekos-Mirkowa 1979), Slovensko (Dostál 1989, Piekos-Mirkowa 1991). Ve Finsku a Norsku je tento taxon dokonce hojnější než *D. dilatata* a nachází se i na Islandu, kde *D. dilatata* není přítomna vůbec (Benl et Eschelmüller 1983).

Na území České republiky začal být tento taxon rozeznáván poměrně pozdě, a proto dosud chybějí přesnější údaje o jeho rozšíření (Dostál 1989, Chán 1999, Chrtek 1988, Slavík 1986). V Černém a Čeveném seznamu cévnatých rostlin ČR (Procházka 2001) je *D. expansa* zařazena do kategorie C4 b

²²Klimaxové acidofilní horské smrčiny silikátových podkladů, vyskytující se v supramontánních polohách vyšších pohoří ČR.

²³Klimaxové, druhově chudé horské smrčiny s převahou *D. dilatata* na balvanitých svazích.

²⁴supramontánní - subalpínské klimaxové nivové smrčiny s převládající *Athyrium distentifolium* v nejvyšších polohách sudetských pohoří, Šumavy a Moravskoslezských Beskyd.



Obrázek 3.3: Rozšíření *D. expansa* na severní polokouli (Hultén et Fries 1986).

(vzácnější taxony vyžadující zvláštní pozornost, které jsou nedostatečně prostudované). V jižní části Čech byla zatím sbírána v Třeboňské pánvi (Chrtek 1988, Slavík 1986), na Českomoravské vrchovině (Panské Dubenky) a Šumavskonovohradském podhůří (např. Vidov)(Chán 1999). Dále je udávána ze Šumavy s větší koncentrací v Boubínsko-stožecké hornatině a v polohách nad 1100 m n m (např. Černá hora, Třístoličnick, Boubín, Plechý, Smrčina aj.) (Procházka et Štech 2002). Dle Chrtka (Chrtek 1988) je velmi pravděpodobné, že roste roztroušeně v celém českém i moravském mezofytiku i oreofytiku s maximem výskytu v Krkonoších (Stříbrný hřeben, cca 1400 m n m). Zmiňovaný autor dále uvádí možná naleziště z Českého ráje (Jičín), Lužických hor (Nový Bor), Českého středohoří (Milešovské středohoří) a Hrubého a Nízkého Jeseníku (Moravský Beroun).

Tento taxon je mnohými autory (Jessen 1984, Piekos-Mirkowa 1993 aj.) považován za druh horských oblastí. V Alpách, Karpatech a na Kavkazu dosahuje vyšších poloh než *D. dilatata*. Ze slovenských Tater je dokonce uváděn nález z výšky 2098 m n m (Piekos-Mirkowa 1991).

Z našeho území je *D. expansa* popisována také jako druh horských vlhkých lesů, roztroušeně se vyskytující ve smrčínách a bučinách (Chrtek 1988, Kubát et al. 2002). Její rozšíření v rostlinných společenstvech není příliš známo, většinou je uváděna pouze *D. dilatata* a *D. carthusiana* (Chán 1999, Chytrý et al. 2001, Jirásek 1996, Moravec et al. 1995, Neuhäuslová et al. 1998). Pouze Chrtek (1988) a Dostál (1989) udávají tento taxon ze společenstev třídy *Vaccinio-Picetea* a řádu *Fagetalia sylvaticae*. Dle údajů z posledních let byla *D. expansa* fytoocenologicky zpracována pouze z území Šumavy a Předšumaví, kde se nachází ve společenstvech květnatých bučin podsvazu *Eu-Fagenion*, smrkových bučin svazu *Luzulo-Fagion* a smrčín svazu *Piceion excelsae* (Ekrt 2000). Výsledky této studie jsou uvedeny v tab. č. 3.7.

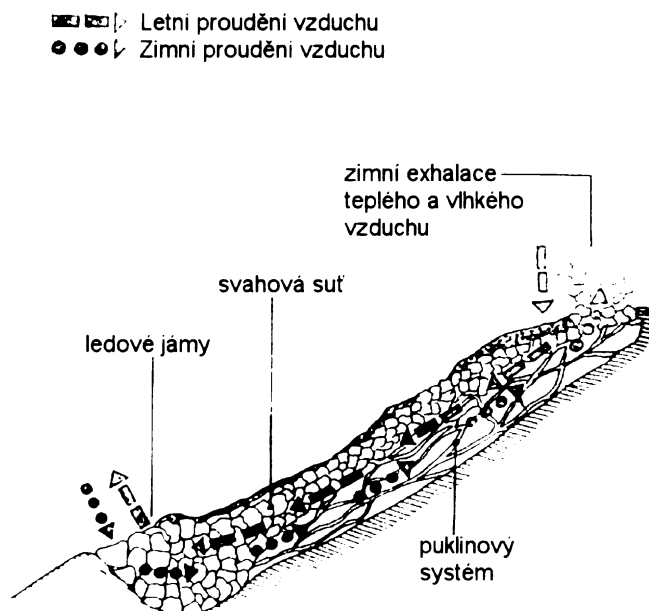
Syntaxonomická jednotka	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>	<i>D. carthusiana</i>
<i>Acerenion</i>	+	-	+
<i>Alnenion glutinoso-incanae</i>	+	-	+
<i>Anion glutinosae</i>	+	+	+
<i>Eu-Fagenion</i>	+	+	+
<i>Galio-Abietenion</i>	+	-	+
<i>Luzulo-Fagion</i>	+	+	+
<i>Piceion excelsae</i>	+	+	-

Tabulka 3.7: Zastoupení jednotlivých druhů komplexu *D. dilatata* v rostlinných společenstvech na území Šumavy a Předšumaví (Ekrt 2000).

Z Polska je tento druh uváděn z různých lesních společenstev asociací *Dentario glandulosae-Fagetum* (podsvaz *Eu-Fagenion*), *Luzulo-Fagetum* (sv. *Luzulo-Fagion*) a olšin *Pulmonario-Alnetum viridis*. Nejvíce zdůrazňován je však jeho výskyt v horských smrčínách (*Piceetum tatricum*) a ve stupni kosodřeviny svazu *Pinion mughi*, kde je častější než v nížinách (Piekos-Mirkowa 1979).

Zvláštním ekologickým fenoménem druhu *D. expansa* je jeho výskyt vázaný na chladné sutě nižších poloh s ledovými jámami (Kubát et al. 2002). Některé lokality s mohutnými suťovými akumulacemi vulkanických hornin a příhodným reliéfem terénu se vyznačují ojedinělým mikroklimatem, kdy v mocných sutích dochází ke specifickému proudění vzduchu (viz obr. 3.4).

V zimním období vtéká výrazně chladnější vzduch do sutí a podchlazuje je. V teplejších zimních dnech nebo časně zjara pak do podchlazených sutí zatéká srážková voda a mění se zde na led. Ten na dolním okraji suti může vydržet až do léta (vznikají tzv. ledové jámy). Naopak v zimě stoupá



Obrázek 3.4: Exhalace a ledové jámy – schéma (převzato z informační tabule CHKO České středohoří).

relativně teplý vzduch puklinovým systémem sutí vzhůru a uniká na horním okraji akumulací v podobě výdechů (exhalace). Páry z exhalovaného vzduchu, jehož teplo stačí rozpouštět sněh v okolí, se srážejí na chladných předmětech a tvoří bohatou námrazu (např. vrch Boreč). Někdy jsou velmi zřetelné i vývěry chladného vlhkého vzduchu, kdy na převislých kamenech tuhne skapávající voda v ledové krápníčky (např. Kamenec). Výrazné ledové jámy se většinou nacházejí v místech, kde jsou spodní části sutí chráněny před odtékáním studeného vzduchu nepropustným podložím (pro vzduch), nebo kde se vytvořila přirozená mrazová kotlina.

Ledové jámy a exhalace jsou pozorovatelné především na mnoha místech v Českém středohoří a přilehlé části Středočeské tabule, výrony teplého vzduchu byly dále zaznamenány z okolí Slaného, Vsetína a Labského dolu v Krkonoších (Brabec 1973, Cílek 2000, Kubát 1971, 1974).

4 Materiál a metodika sběru

Materiál pro studium morfologické variability jednotlivých druhů komplexu *D. dilatata* byl shromážděn z 35-ti lokalit v České republice a na Slovensku. Vzhledem k zaměření výzkumu na oblast Českého středohoří, pochází většina rostlin právě z tohoto území. Přehled lokalit se jmény taxonů, které na nich byly sbírány, je uveden v příloze B.

D. expansa nebyla na našem území dlouho rozeznávána a také v herbářích dodnes často dochází k záměnám tohoto taxonu s velmi morfologicky podobným druhem *D. dilatata*. Z těchto důvodů neexistují věrohodné literární údaje ani herbářové položky, ze kterých by bylo možné při mapování rozšíření tohoto druhu vycházet.



Obrázek 4.1: Značení jednotlivých exemplářů v terénu.

Z oblasti Českého středohoří byly dosud známy pouze tři lokality *D. expansa* (K. Kubát 2003 – ústní sdělení). Tato naleziště jsou charakteristická přítomností chladných sutí s ledovými jámami, na které je taxon *D. expansa* vázán. Proto byla většina lokalit v Českém středohoří vytipována na základě dosud známého výskytu ledových jam (Kubát 1971). Za účelem co nejobjektivnějšího morfologického a statistického vyhodnocení zkoumaných druhů byly vzorky sesbírány také z oblasti Krkonoš, jižních Čech a dalších míst v České a Slovenské republice, na nichž byl výskyt *D. expansa* zaznamenán či byl předpokládán na základě abiotických podmínek. Přehle-

dové mapy znázorňující rozšíření zkoumaných druhů na našem území byly na základě GPS souřadnic jednotlivých nalezišť vytvořeny v programu DMAP V6.4. Uvedeny jsou v příloze A.

Rostliny byly na lokalitách sbírány pokud možno náhodně s cílem pokrýt veškerou morfologickou variabilitu. Každý trs, z kterého byl odebrán list, byl označen kolíkem s identifikačním číslem vzorku a zaměřen pomocí GPS²⁵. Dále byla z každého exempláře odebrána část listu (obvykle tam, kde nebyly spory) pro určení ploidie a velikosti genomu metodou průtokové cytometrie (viz. kap. 5.1). Pro účely morfometrických analýz byl každý odebraný vzorek zaherbářován (především co nejméně poškozené, plně vyvinuté listy se sporami a celým řapíkem). V rámci jedné lokality bylo tímto způsobem obvykle sebráno 10 - 30 exemplářů. Z populací, které byly smíšené nebo vykazovaly zajímavou kombinaci morfologických znaků, byl pro další analýzy odebrán větší počet vzorků.

Celkem bylo analyzováno 607 rostlin pěti druhů, které patřily 3 druhům a 2 hybridům. Sběr materiálu probíhal ve vegetačních obdobích od června do poloviny října v letech 2004-2005.

Doklady sebraných vzorků ze všech navštívených lokalit jsou uloženy v herbářích Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (PRC).

²⁵Místy byla přesnost zaměření značně zhoršena členitostí a uspořádáním terénu, který znemožňoval kvalitní příjem družicového signálu ze systému GPS.

5 Analýza relativního obsahu jaderné DNA

Množství jaderné DNA je jednou z důležitých charakteristik taxonů (Bennett et al. 2000). V biosystematickém výzkumu se velikost genomu osvědčila jako spolehlivý druhově-specifický znak, dovolující v mnoha případech i odlišení taxonů (a jejich kříženců) se stejným počtem chromozómů.

Komplex *D. dilatata* zahrnuje druhy s velkou morfológickou variabilitou, která značně ztěžuje jejich determinaci. V předchozích studiích byly jednotlivé druhy často určovány pouze na základě morfológických znaků. Tento způsob však nemusí být vždy spolehlivý, neboť na celkový habitus rostlin mohou mít vliv i různé podmínky prostředí (např. barva čepele může být ovlivněna množstvím světla, na vlhkých a živinami bohatých půdách dosahují rostliny vyššího vzrůstu aj.). Proto byl hledán takový znak, který by byl nezávislý na morfológických charakteristikách, ale přesto umožnil jednoznačné vymezení jednotlivých taxonů. Tímto způsobem by pak bylo možné sledovat i důležitost a variabilitu morfológických znaků.

Předběžné analýzy jednotlivých druhů ukázaly, že takovým znakem je velikost genomu. Proto byly na základě této charakteristiky jednotlivé rostliny rozděleny do skupin a teprve poté byly v morfometrických analýzách sledovány morfológické znaky jednotlivých druhů a jejich význam kriticky hodnocen. Tím bylo docíleno jednoznačné a objektivní determinace a výsledky nejsou zatíženy subjektivní chybou.

Velikost genomu je možné stanovovat dvěma způsoby:

Prvním z nich jsou tzv. densitometrické techniky (např. obrazová cytometrie), které určují obsah jaderné DNA podle optických vlastností (optické density) analyzované oblasti (ta je předtím většinou obarvena nějakým vhodným činidlem - např. Feulgenovou reakcí)²⁶.

Druhým způsobem jsou fluorometrické postupy (nejpoužívanější z nich je průtoková cytometrie), které určují obsah jaderné DNA na základě množství světla vyzářeného po excitaci fluorescenčního barviva, které se na DNA navázalo (intenzita fluorescence). Tato metoda byla použita i pro komplex *D. dilatata*. Její podrobnější popis a princip společně s výsledky je uveden v následujících kapitolách.

²⁶Princip této reakce je následující: Při mírné hydrolýze kyselinou chlorovodíkovou se z řetězců DNA odštěpují purinové báze. V místě jejich odštěpení se na podjednotkách cukru (deoxyribózy) uvolňují aldehydicke skupiny, které redukují Schiffovo činidlo (kys. fuchsinsířčitá) a tím způsobují červenofialové zbarvení.

5.1 Průtoková cytometrie

5.1.1 Úvod

V karyologických studiích nachází v současné době průtoková cytometrie široké uplatnění (Doležel et al. 1997, Suda 2005). Mezi její hlavní výhody patří kromě jednoduché přípravy vzorků především rychlost, s jakou lze během krátké doby analyzovat poměrně velký počet jedinců. Dále je pro analýzy třeba jen malé množství pletiva, což umožňuje opakované odběry materiálu u jednoho jedince bez jeho velkého poškození. Vzhledem k tomu, že je intenzita fluorescence každé jednotlivé částice snímána samostatně, lze jednoduše odhalit i smíšené vzorky nebo mixoploidii²⁷. Další výhodou této metody (proti klasickému počítání chromozómů v roztlakových preparátech) je i možnost analyzovat mitoticky neaktivní buňky, které většinou v diferencovaných pletivech převažují. Na druhou stranu je však třeba při cytometrických analýzách pracovat s živým materiálem, neboť i pouhé vadnutí rostlin může způsobit zhoršení kvality výsledných histogramů. Kvalitu měření mohou také nepříznivě ovlivnit i některé sekundární metabolity (např. taniny, které se nacházejí u některých druhů kapradin nebo u čeledi *Rosaceae*). Tato metoda se výborně uplatňuje při studiu polyploidních komplexů nebo u rostlinných druhů s více stupni ploidie, zvláště pokud se vyskytují ve smíšených populacích. Navíc u rostlin, které se dostatečně liší velikostí genomu, lze pomocí cytometrie rozpoznat křížence i za předpokladu, že rodičovské druhy mají shodný počet chromozómů (např. u rodu *Dryopteris*). Nelze opomenout ani její využití při studiu dvoudomých rostlin, u kterých se jednotlivá pohlaví liší velikostí či počtem pohlavních chromozómů, při detekci endoreduplikace²⁸ nebo při zjišťování aneuploidních jedinců (zde však přesnost analýzy s rostoucím počtem chromozómů klesá a je třeba ji ověřit klasickými karyologickými metodami). Cytometrické analýzy umožňují i stanovení reprodukčního způsobu rostlin porovnáním ploidie embrya a endospermu u zralých semen²⁹.

5.1.2 Princip

Metoda je založena na detekci a analýze záření emitovaného fluorescenčními barvivými (fluorochromy), které se specificky vážou na DNA. Jsou-li tato barviva ozářena světlem vhodné vlnové délky, dojde k jejich excitaci³⁰. Tento stav je však nestabilní a excitované fluorochromy se vracejí do původního

²⁷ přítomnost buněk dvou nebo více ploidních úrovní

²⁸ zmnóžení obsahu DNA, ke kterému často dochází v zásobních orgánech

²⁹ např. některé apomiktické druhy lze rozpoznat podle triploidního embrya a hexaploidního endospermu

³⁰ přechod elektronů na vyšší energetickou hladinu

stavu za uvolnění tepelné a světelné energie (fluorescence). Protože se během tohoto procesu část energie ztrácí ve formě tepla, je vlnová délka emitovaného záření větší než vlnová délka excitačního záření. Pomocí optických filtrů v průtokovém cytometru lze obě záření oddělit a analyzovat fluorescenci každého barviva zvlášť.

Jádrem každého cytometru je průtoková komůrka, v které dochází k vyrovnání a seřazení analyzovaných částic tak, aby se pohybovaly jedna za druhou. Toho lze nejlépe dosáhnout pomocí tzv. hydrodynamické fokusace. Při ní je do komůrky přiváděna unášecí kapalina (většinou destilovaná voda nebo slabý roztok solí) pod větším tlakem než má analyzovaný vzorek. To způsobuje urychlení a soustředění suspenze částic do středu vodního paprsku, který komůrku opouští. Po té se proud analyzovaných částic dostává do ohniska zdroje excitačního záření (tím je nejčastěji laser nebo vysokotlaká rtuťová výbojka). Fluorochromy navázané na částicích jsou excitovány, což vyvolá nejen emisi fluorescence, ale i rozptyl světla. Fluorescence je potom zachycena pomocí optické soustavy a zpracována do digitální podoby.

Výsledkem analýzy je dvourozměrný histogram, který zobrazuje relativní intenzitu fluorescence jednotlivých izolovaných částic. Ta je přímo úměrná množství DNA v jádře. Typický histogram obsahuje na ose x dva výrazné píky. První z nich odpovídá buňkám v G1 fázi a druhý pík, který je většinou výrazně nižší, odráží fluorescenci buněk v G2 fázi³¹. Podle polohy píků na ose x tedy můžeme určit ploidii příslušné rostliny. Pro správné stanovení ploidie nebo množství DNA je vhodné analyzovat vzorek s interním standardem (rostlina se známým obsahem DNA). Pro dobrou interpretovatelnost výsledků je důležitá přesnost analýz. Ta je vyjádřena koeficientem variance CV (viz. vztah 5.1). Obvykle se pohybuje v rozmezí 1-10 %, ale pro kritické analýzy je třeba držet se na dolní hranici uvedeného rozpětí (cca 3%, Suda 2005).

$$CV = \frac{\text{směrodatná odchylka}}{\text{průměr}} \cdot 100 \quad (5.1)$$

Fluorescenční barviva používaná pro cytometrické analýzy lze podle způsobu vazby na DNA rozdělit do tří skupin - interkalační, AT specifická a GC specifická. Do první skupiny (interkalační barviva) patří propidiumjodid a ethidiumbromid. Tato barviva se kvantitativně vmezeřují mezi páry bází dvoušroubovice DNA a jsou vhodná pro určení celkového obsahu nukleové kyseliny. AT specifická barviva (např. DAPI, Hoechst) se váží na oblasti bohaté adeninem (A) a thyminem (T) a umožňují velmi kvalitně rozlišit

³¹G1 fáze: perioda růstu, kdy buňka obsahuje základní množství DNA; G2 fáze: další perioda růstu, kdy buňky mají dvounásobné množství DNA

různé ploidní úrovně studovaných druhů. GC specifická barviva, která preferují úseky bohaté guaninem (G) a cytosinem (C), se v taxonomických studiích z důvodu nižšího rozlišení analýz příliš nevyužívají.

5.1.3 Postup

Průtoková cytometrie byla použita pro stanovení ploidního stupně a relativního množství jaderné DNA u rostlin ze všech lokalit. Všechna měření byla provedena na průtokovém cytometru Partec Pa II v Botanickém ústavu AV ČR v Průhonicích.

Postup přípravy vzorků vycházel z metodiky Otto (1990)

Příprava vzorků (suspenze intaktních jader) – Z každé rostliny byla odebrána část listového pletiva o ploše cca 4,5 cm². Dále bylo přidáno odpovídající množství interního standardu (tak, aby byla dosažena přibližně stejná výška obou píků na výsledném histogramu) a 0,6 ml chlazeného roztoku Otto I. Vše bylo v Petriho misce rozsekáno ostrou žiletkou a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes nylonový filtr (velikost oka 42 μm) do připravených a označených epruvet. Takto byl vzorek ponechán cca 20 minut při pokojové teplotě.

Jako interní standard při určování DNA ploidie jednotlivých druhů byla použita *Vicia faba* cv. Inovec (2C³² obsah DNA = 26,90 pg).

Barvení intaktních jader – K barvení byl použit fluorochrom DAPI i propidiumjodid. Ukázalo se, že propidiumjodid není pro analýzu sledovaných vzorků kvůli interferenci fluorochromu s fenologickými látkami příliš vhodný. Výsledné analýzy vykazovaly vysoké koeficienty variance, množství nespecifických fluorescenčních signálů a nedovolily tedy kritické stanovení velikosti genomu. Proto byly dále veškeré analýzy prováděny pouze s fluorochromem DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole), který je méně citlivý k přítomnosti sekundárních metabolitů. Vlastnosti obou fluorochromů jsou shrnuty v tabulce č. 5.1. Ke každému vzorku byl vždy přidán 1 ml barvicího roztoku (Otto II + fluorochrom). Po protřepání byl vzorek inkubován několik minut (cca 1-2 min) při pokojové teplotě a poté analyzován průtokovým cytometrem.

³²hodnota C určuje velikost nereplikovaného haploidního genomu

Použité roztoky:**Pufr Otto I**

0,1M monohydrát kyseliny citronové ... 4,2g
0,5% (v/v) Tween 20 ... 1ml
destilovaná H₂O ... 200ml
přefiltrovat přes nylonový filtr
(velikost oka 22μm)
skladovat při teplotě 4°C

Pufr Otto II

0,4 M Na₂HPO₄ · 12 H₂O ... 28,65g
destilovaná H₂O ... 200ml
přefiltrovat přes nylonový filtr
(velikost oka 22μm)
skladovat ve tmě při pokojové teplotě
před každým použitím přefiltrovat

Zásobní roztok DAPI (0,1 mg/ml)

DAPI ... 5mg
rozpustit v 50 ml redestilované H₂O
přefiltrovat přes nylonový filtr (velikost oka 22μm)
rozpipetovat do eppendorfek po 1ml
skladovat při teplotě -20°C

Barvicí roztok DAPI (4μg/ml)

zásobní roztok DAPI ... 400μl
pufr Otto II ... 10ml
(přefiltrovaný přes nylonový filtr, velikost oka 22μm)
2-merkaptoethanol ... 20μl

Barvivo	typ vazby na DNA	vlnová délka [nm]	
		excitační záření	emitované záření
DAPI	AT oblasti	360	460
propidiumjodid	interkalace	535	620

Tabulka 5.1: Vlastnosti fluorescenčních barviv použitých v cytometrických analýzách (Doležel et al. 1997).

5.1.4 Výsledky

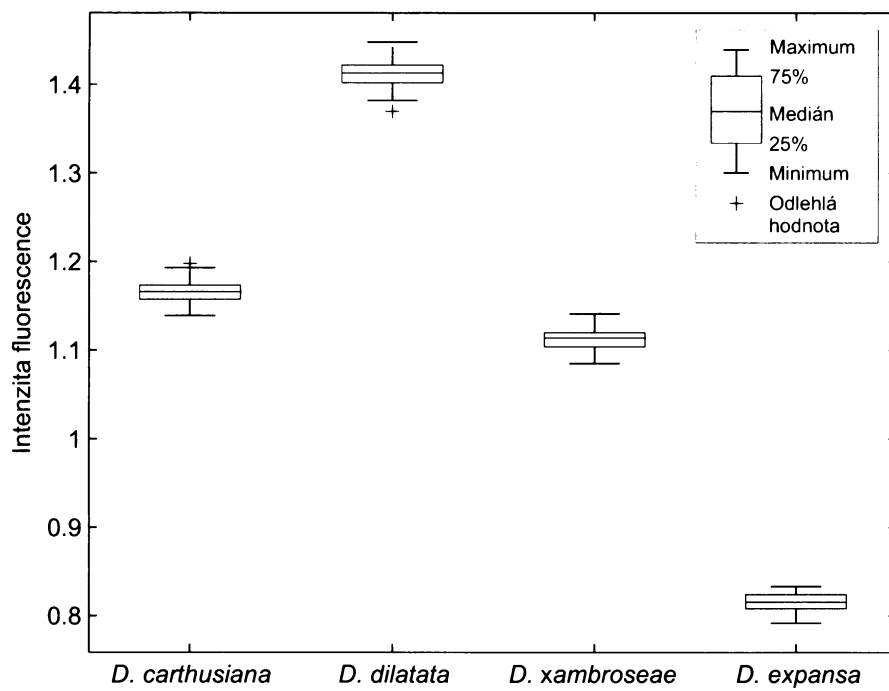
Jak je patrné z obrázků č. 5.2 - 5.4, cytometrickou analýzou byla jednoznačně odlišena nejen diploidní *D. expansa*, ale i oba tetraploidní taxony - *D. dilatata* a *D. carthusiana*. Dále byli touto metodou odhaleni i dva kříženci - *Dryopteris* × *ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*) a *Dryopteris* × *deweveri* (*D. dilatata* × *carthusiana*), jejichž výskyt nebyl dosud v České republice cytologicky ověřen. I z výsledků společných analýz těchto hybridů s jejich rodičovskými druhy je zřejmá jednoznačná diferenciaci všech taxonů i nothotaxonů na základě velikosti genomu (viz obr. č. 5.5 - 5.9).

U všech analyzovaných vzorků se koeficient variance (CV) pohyboval v rozmezí 1,51-2,85%, z čehož vyplývá velmi dobrá přesnost analýz. Také u standardu *Vicia faba* nepřesáhl koeficient variance 3% dolní hranici pro kritické analýzy a pohyboval se v rozmezí 1,19-2,14%.

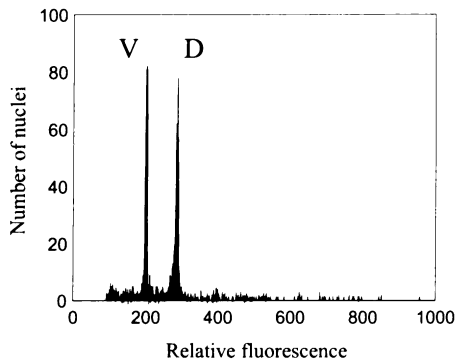
Taxon	Počet rostlin	Intenzita fluorescence		
		Min	Max	Průměr ±SD
<i>D. expansa</i>	163	0,791	0,833	0,815±0,017
<i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i>	38	1,085	1,141	1,113±0,013
<i>D. carthusiana</i>	213	1,139	1,193	1,166±0,012
<i>D. carthusiana</i> × <i>dilatata</i>	2	1,271	1,289	1,280
<i>D. dilatata</i>	191	1,370	1,448	1,413±0,0146

Tabulka 5.2: Intenzita fluorescence zjištěná pro jednotlivé druhy v porovnání se standardem *Vicia faba* (s jednotkovou fluorescencí).

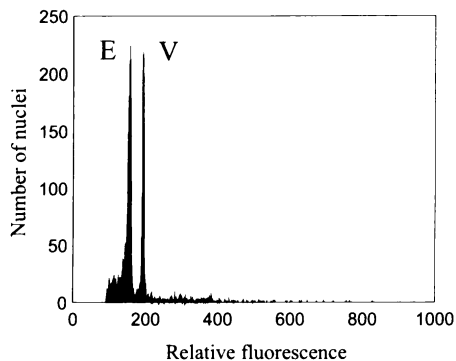
Relativní intenzita fluorescence, která byla zjištěna pro jednotlivé druhy a křížence, je uvedena v tabulce č. 5.2 a na obrázku č. 5.1 jsou tyto hodnoty zobrazeny graficky.



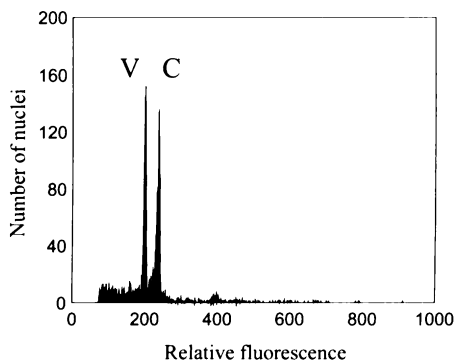
Obrázek 5.1: Rozdíly v intenzitě fluorescence u jednotlivých druhů komplexu *D. dilatata*. Vzhledem k malému počtu vzorků *D. × deweveri*, nebyl tento druh do analýzy zahrnut.



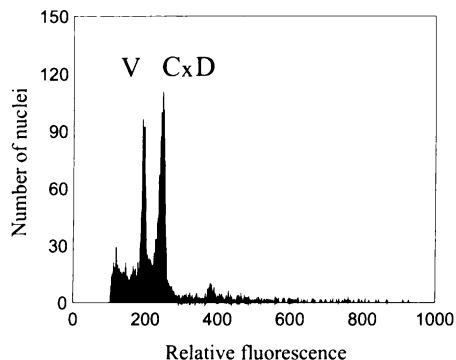
Obrázek 5.2: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. dilatata* (D, vz. č. 124) v porovnání se standardem *Vicia faba* (poměry píků 1:1,42).



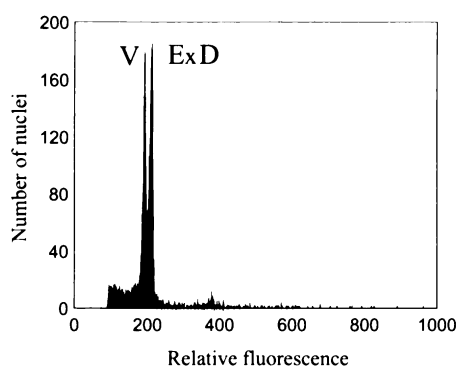
Obrázek 5.3: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. expansa* (E, vz. č. 201) v porovnání se standardem *Vicia faba* (poměry píků 1:1,25).



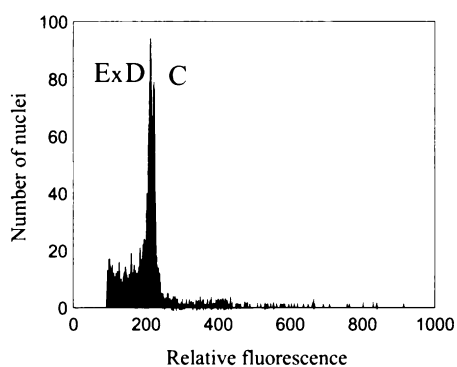
Obrázek 5.4: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. carthusiana* (C, vz. č. 217) v porovnání se standardem *Vicia faba* (poměry píků 1:1,18).



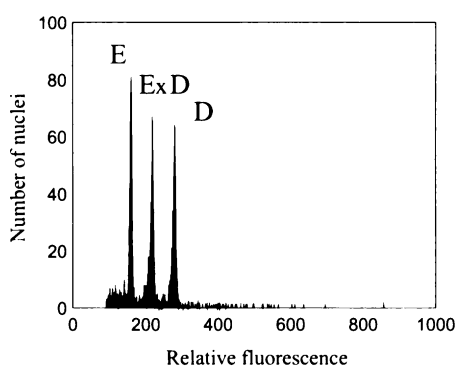
Obrázek 5.5: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. x deweveri* (CxD, vz. č. 2429) v porovnání se standardem *Vicia faba* (poměry píků 1:1,28).



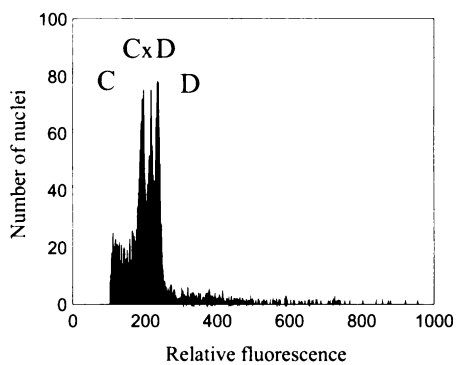
Obrázek 5.6: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. x ambroseae* (ExD, vz. č. 163) v porovnání se standardem *Vicia faba* (poměry píků 1:1,10).



Obrázek 5.7: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. x ambroseae* (ExD, vz. č. 209) a *D. carthusiana* (C, vz. č. 207, píky v poměru 1:1,04).



Obrázek 5.8: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. expansa* (E, vz. č. 212), *D. x ambroseae* (ExD, vz. č. 209) a *D. dilatata* (D, vz. č. 214, píky v poměru 1:1,36:1,72).



Obrázek 5.9: Výsledný histogram analýzy relativního množství DNA u *D. carthusiana* (C, vz. č. 1250), *D. x deweveri* (CxD, vz. č. 2429) a *D. dilatata* (D, vz. č. 1249, píky v poměru 1:1,12:1,22).

5.1.5 Shrnutí výsledků

Stanovením relativního obsahu DNA byl ověřen hojný výskyt tetraploidních taxonů *D. carthusiana* a *D. dilatata* a doplněny údaje o rozšíření *D. expansa* jak v oblasti Českého středohoří, tak i na dalších místech České republiky.

Rozšíření *D. expansa* bylo dosud známo velmi nedokonale, neboť je tento taxon často zaměňován s morfologicky podobným druhem *D. dilatata*, se kterým se vyskytuje ve smíšených populacích.

Z Českého středohoří a přilehlých oblastí byl znám výskyt *D. expansa* pouze z těchto lokalit: Kamenec u Merboltic, Štěpánovská hora u Štěpánova a Klíč u Nového Boru (Lužické hory). Cytometrická analýza tyto údaje nejen potvrdila, ale umožnila i jednoznačné určení tohoto taxonu z dalších míst. Přehled nově objevených lokalit z oblasti Českého středohoří a přilehlé části České křídové tabule je uveden v následující tabulce č.5.3, cytometricky ověřené populace *D. expansa* jsou znázorněny na mapě v příloze A.2.

Lokalita	Počet rostlin	Chladné sutě
Bobří soutěska	13	+
Čertova jizba	9	+
Kamenec	13	+
Milešovka	2	-
Průčelská rokle	1	+
Štěpánovská hora	9	+
Bilíčov u Loun	3	-
Klíč u Nového Boru	13	+
Ralsko u Mimoně	8	-
Růžovský vrch u Děčína	22	-

Tabulka 5.3: Přehled ověřených lokalit *D. expansa* z oblasti Českého středohoří a přilehlé části České křídové tabule.

Dále byla *D. expansa* potvrzena i z několika lokalit v Krkonoších. Na základě sesbíraného materiálu se dokonce zdá, že je v této oblasti mnohem častější než v Českém středohoří.

Další lokality *D. expansa* jsou uváděny z oblasti Šumavy (Chán 1999, Chrtek 1988, Procházka et Štech 2002). V letech 1998-1999 zde byl výskyt tohoto taxonu podrobně mapován (Ekrt 2000). U nalezených jedinců však nebyla stanovena DNA ploidie a vzhledem k možné hybridizaci, ke které u těchto taxonů dochází, nelze tyto údaje nekriticky přebírat. V rámci této studie však byl cytologicky potvrzen výskyt *D. expansa* i v této oblasti.

Pomocí cytometrické analýzy byl prokázán i hojný výskyt kříženců *D. dilatata* × *expansa* (*D. × ambroseae*) na 13-ti lokalitách v České repub-

lice. To je v rozporu s údaji Chrtka (Chrtek 1988), který uvádí výskyt tohoto triploidního hybridu pouze z okolí Písku. Dle výše zmiňovaného autora je nejčastějším křížencem *D. × deweveri* (*D. carthusiana* × *dilatata*), který je rozšířený na celém území ČR a na některých místech je dokonce hojnější než rodičovské druhy. Během terénních průzkumů se však ukázalo, že *D. carthusiana* a *D. dilatata* se sice mohou na lokalitách vyskytovat společně, nicméně k jejich hybridizaci téměř nedochází. Ze smíšených populací obou druhů byl cytologicky potvrzen pouze jediný výskyt tohoto křížence z oblasti Českomoravské vrchoviny. V předchozí pilotní studii (K. Kubát - ústní sdělení) byl jeden exemplář nalezen a cytometricky ověřen i na jedné lokalitě v Českém středohoří (Kamenec). Při dalším průzkumu tohoto místa však byly všechny pokusy o jeho nalezení neúspěšné.

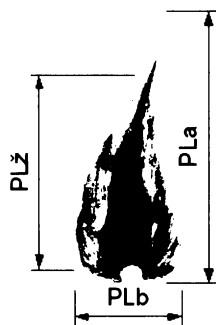
6 Morfometrické analýzy

Morfometrické analýzy zahrnují širokou škálu přístupů, které umožňují získat objektivní informace o morfologické variabilitě studovaných objektů. V botanických studiích se mimo jiné používají ke zjištění míry mezipopulační a vnitropopulační variability, či odhalení znaků, které umožňují spolehlivé odlišení předem definovaných skupin objektů. Mezi hlavní výhody patří možnost současného zpracování velkého množství znaků a nezávislost na subjektivním hodnocení.

Morfometrické studie lze s výhodou použít při taxonomickém zpracování polyploidních komplexů, u nichž je zajištěna jednoznačná definice skupin objektů (na základě stupně ploidie). Jedním z příkladů je i tato studie komplexu *D. dilatata*. Jejím cílem bylo zjistit, zda je možné na základě morfologických znaků jednotlivé druhy a jejich hybridy tohoto komplexu jednoznačně determinovat i bez znalosti ploidního stupně.

6.1 Měřené znaky

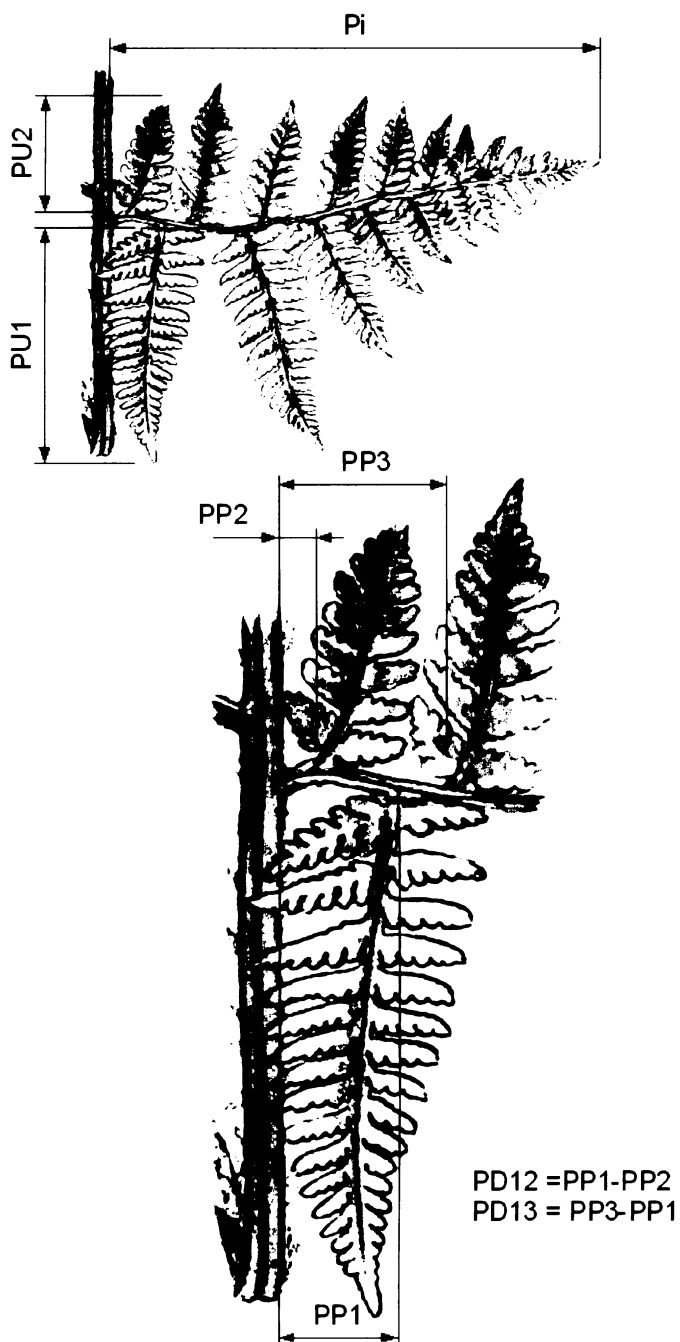
Při výběru znaků vhodných pro další zpracování pomocí morfometrické analýzy byl brán ohled na literární údaje (Chrtek 1988, Ekrt 2000, Kubát et al. 2002, Piekos-Mirkowa 1979 aj.). Další znaky byly vybrány na základě vlastního pozorování. Celkem bylo na herbářovaném materiálu měřeno 39 znaků. Z toho bylo 21 parametrů primárních a 18 poměrových.



Obrázek 6.1: Přehled měřených znaků na plevinách

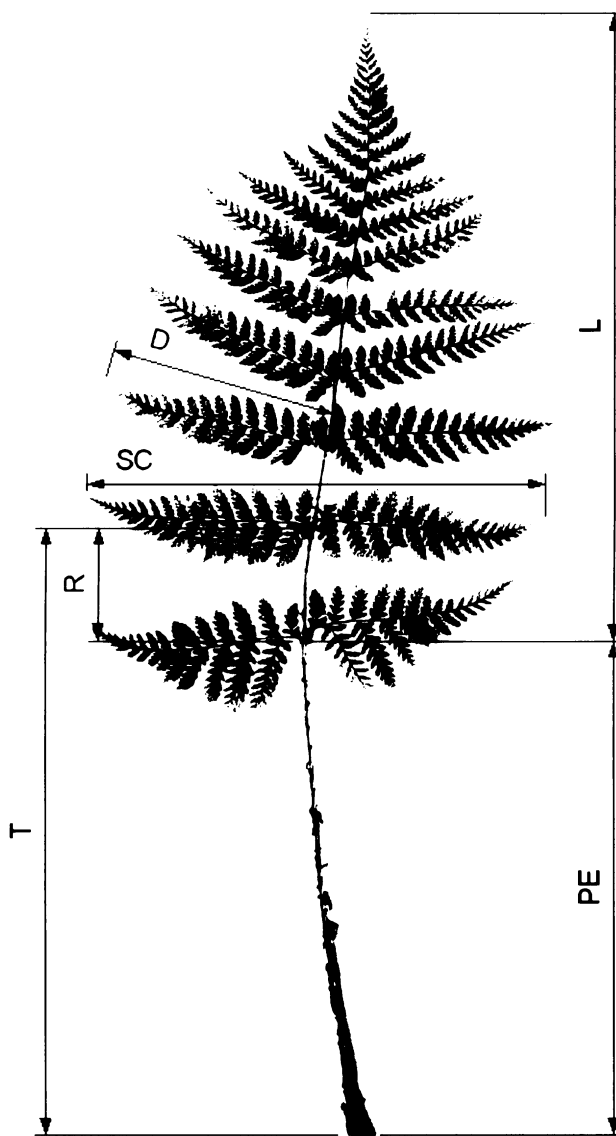
Jednotlivé měřené znaky jsou znázorněny na obrázcích č. 6.1, 6.3 a 6.2. Jejich úplný seznam je pak uveden v tabulce č. 6.1. Fotodokumentace cytologicky ověřených druhů z několika lokalit je součástí přiloženého CD-ROMu (viz. příloha D). Pozornost byla věnována i dalším znakům, jež nebylo možné zahrnout do morfometrické analýzy, ale které mohou mít význam pro odli-

šení některých druhů (např. tmavěhnědá nebo světlehnědá barva spor, dělení čepele, postavení listů aj.). Jejich přínos je zhodnocen v kapitole 8.



Obrázek 6.2: Přehled měřených znaků na listu

Znaky byly měřeny milimetrovým měřítkem s přesností na 1mm a svinovacím metrem s přesností na 0,5cm (délka čepele, délka řapíku - znaky v4,v5). Párové znaky (v13, v14, v15, v18, v19, v31, v32, v38) byly zpravidla proměřovány na pravé straně při pohledu na svrchní stranu čepele.



Obrázek 6.3: Přehled měřených znaků na listu

Znaky délka plevin, šířka plevin a délka středního žebra plevin (v23, v24, v25 - viz obr. 6.1) byly měřeny pomocí binokulární lupy s okulárovým mikro-

metrem při zvětšení 1,8 x 8. Velikost, tvar a barva plevin jsou dosti variabilní i v rámci jednoho listu (závisí na části listu, kde se nacházejí). Proto byly u všech druhů sledovány jen pleviny ve střední části řapíku (cca 3 cm od kontaktu oddenku a řapíku). U každého jedince bylo změřeno 5 plevin. Ve statistických analýzách pak bylo počítáno s jejich průměrnou hodnotou.

Žlázky na spodní straně větene listu (znak v28) byly měřeny pod binokulární lupou s okulárovým mikrometrem při zvětšení 5 x 8. U *D. carthusiana* byly žlázky počítány na celém větenu listu, u ostatních druhů na ploše cca 1,5cm² v dolní části větene listu a výsledek byl vynásoben průměrnou velikostí čepele daného druhu.

Velikost spor (znak v29) byla měřena pod světelným mikroskopem s okulárovým mikrometrem³³ při zvětšení 45 x 8. Na každém listu bylo proměřeno 15 spor (v analýzách byla opět použita jejich průměrná hodnota). Současně byl stanoven podíl plně vyvinutých a abortovaných spor.

³³Kalibrace okuláru byla provedena pomocí objektivního mikrometru (Pazourková 1986), stejně bylo postupováno při kalibraci binokulární lupy.

Číslo	Popis	Jednotky
v4	délka čepele (L)	[cm]
v5	délka řapíku (PE)	[cm]
v6	poměr délky čepele k délce řapíku (L/PE)	[-]
v7	délka nejdelšího lístku na čepeli (D)	[cm]
v8	poměr délky nejdelšího lístku na čepeli k délce čepele (D/L)	[-]
v9	šířka čepele (SC)	[cm]
v10	poměr délky čepele k šířce čepele (L/SC)	[-]
v11	vzdálenost od nejširší části čepele k bázi řapíku (T)	[cm]
v12	vzdálenost od nejširší části čepele k bázi čepele (R)	[cm]
v13	délka nejspodnějšího lístku (Pi)	[cm]
v14	délka dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (PU1)	[cm]
v15	délka horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (PU2)	[cm]
v16	poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (PU1/Pi)	[-]
v17	poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (PU1/PU2)	[-]
v18	vzdálenost dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od 1. (od báze lístku) horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (PD12)	[cm]
v19	vzdálenost dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od 2. (od báze lístku) horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (PD13)	[cm]

Tabulka 6.1: Seznam měřených znaků – 1.část

Číslo	Popis	Jednotky
v20	poloha dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k poloze 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku – od vřetene listu (PP1/PP2)	[-]
v21	poloha 2. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k poloze dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku – od vřetene listu (PP3/PP1)	[-]
v22	vzdálenost dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku/ součet vzdálenosti dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku a vzdálenosti dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od 2. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (v18/(v18+v19))	[-]
v23	celková délka plevin (PLa)	[cm]
v24	největší šířka plevin (PLb)	[cm]
v25	délka středního žebra plevin (PLž)	[cm]
v26	poměr celkové délky plevin k největší šířce plevin (PLa/PLb)	[-]
v27	poměr délky středního žebra plevin k celkové délce plevin (PLž/PLa)	[-]
v28	počet žlázek na vřeteni listu (ŽL)	[cm]
v29	velikost spor (DS)	[μ m]
v30	kvalita spor (% vyvinutých spor)	[%]
v31	poloha dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od vřetene listu (PP1)	[cm]
v32	poloha 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od vřetene listu (PP2)	[cm]
v33	poloha dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (PP1/Pi)	[-]
v34	poloha 1. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (PP2/Pi)	[-]
v35	poloha 2. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (PP3/Pi)	[-]
v36	celková délka čepele (L+PE)	[cm]
v37	poměr délky nejspodnějšího lístku k délce nejdelšího lístku na čepeli (Pi/D)	[-]
v38	poloha 2. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od vřetene listu (PP3)	[cm]
v39	poměr délky nejspodnějšího lístku k délce čepele (Pi/L)	[-]
v40	poměr délky horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (PU2/Pi)	[-]
v41	poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce čepele (PU1/L)	[-]
v42	poměr délky horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce čepele (PU2/L)	[-]

Tabulka 6.1: Seznam měřených znaků – 2.část

6.2 Metodika

Na naměřených datech byly v programech SAS 8e a SYN-TAX 2000 provedeny tyto operace:

- Základní statistiky
- Korelace proměnných
- Analýza hlavních komponent (PCA)
- Shlukovací analýza
- Diskriminační analýza

Bližší vysvětlení uvedených analýz je popsáno v následujících odstavcích.

Základní statistiky

Pomocí procedury UNIVARIATE programu SAS 8e byla pro každý druh vypočtena průměrná hodnota znaku, medián, minimum, maximum, horní (75%) a dolní (25%) kvartil a směrodatná odchylka. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v příloze C.

Dále bylo pro jednotlivé znaky testováno normální rozdělení za použití Shapiro – Wilkova testu. Protože většina naměřených dat vykazovala větší či menší odchylky od normálního rozdělení, byly u analýz, které normální rozdělení vyžadují, používány neparametrické metody.

Korelace proměnných

Cílem korelační analýzy je odhalit velmi těsně korelované znaky. To jsou takové dvojice parametrů, které vykazují výraznou závislost jednoho na druhém. Některé mnohorozměrné metody (zejména diskriminační analýza) jsou na těsně korelované znaky citlivé.

Měřítkem korelace jednotlivých proměnných byl Spearmanův korelační koeficient³⁴. Míra korelace byla zjišťována pro celý datový soubor i uvnitř jednotlivých skupin pomocí procedury CORR programu SAS 8e.

Získané hodnoty korelačních koeficientů jednotlivých znaků byly hodnoceny dle následujícího intervalového rozpětí:

0,6 -0,95	znaky korelované
0,95-0,99	znaky těsně korelované
0,99- 1	znaky velmi těsně korelované

³⁴Výpočet tohoto koeficientu je založen na korelaci pořadí jednotlivých pozorování, nikoliv na konkrétních hodnotách a používá se v případech, kdy data nemají normální rozdělení.

U vysokých korelací nad 0,97 je nutné jeden z těsně korelovaných znaků z dalších analýz vyloučit. Při korelačních koeficientech 0,95-0,97 je třeba přihlížet ke konkrétní situaci. Při hodnotách nižších než 0,95 se do analýz většinou zahrnují oba korelované znaky (Marhold et Suda 2002).

Analýza hlavních komponent (PCA)

Analýza hlavních komponent patří mezi mnohorozměrné techniky, které popisují vztahy mezi několika kvantitativními proměnnými (Marhold et Suda 2002). Jedná se o tzv. prostor zužující metodu, která umožňuje redukovat dimenzi euklidovského znakového prostoru tak, aby došlo k minimální ztrátě informace. Původní soubor pozorovaných znaků je nahrazen souborem nových, vzájemně nekorelovaných. Nové znaky (hlavní komponenty - osy) jsou uspořádány podle jejich klesající variability. První nová osa (první hlavní komponenta PC1) je vedena ve směru největší variability mezi objekty, druhá osa (druhá hlavní komponenta PC2) je kolmá na první osu a je vedena ve směru druhé největší variability mezi objekty atd. První tři osy většinou obsahují podstatnou část informace. Relativní pozice objektů v prostoru určeném hlavními komponentami zůstává stejná jako v prostoru původním.

Metoda PCA byla použita pro znázornění přibližného prostorového rozložení zkoumaných objektů a byla provedena pomocí procedury PRINCOMP v programu SAS 8e.

Shlukovací analýza

Tato metoda shlukuje objekty nebo skupiny objektů, které jsou si navzájem blízké či podobné, do nenáhodných skupin. Výsledné uspořádání těchto shluků je hierarchické a zobrazuje se formou dendrogramu, který podává informaci o struktuře naměřených dat a vzájemných vztazích jednotlivých populací (Marhold et Suda 2002).

Pro shlukovací analýzu byly použity průměrné hodnoty znaků z jednotlivých populací.

Protože není dopředu možné jednoznačně určit, která metoda povede k optimálnímu výsledku, byly postupně vyzkoušeny následující metody:

single linkage (metoda nejbližšího souseda, jednospojová metoda)

Vzdálenost mezi dvěma shluky se vymezuje jako vzdálenost mezi nejbližšími členy shluků. Nevýhodou této metody je tzv. řetězový efekt. Při něm dochází ke spojování shluků, jejichž dva členové jsou si sice blízcí, ale podle pozice většiny ostatních se ve skutečnosti o nejbližší shluky nejedná.



complete linkage (metoda nejvzdálenějšího souseda, všespojová m.)

Vzdálenost mezi dvěma shluky je definována jako vzdálenost nejodlehlejších objektů.

average linkage (metoda průměrné vzdálenosti, středospojová m., UPGMA)

Vzdálenost mezi shluky se definuje jako průměr vzdáleností mezi všemi dvojicemi z obou shluků.

centroidní metoda (centroid method, UPGMC)

Vzdálenost mezi dvěma shluky v euklidovském prostoru je v této metodě definována jako vzdálenost mezi jejich těžišti (centroidy). Při shlukování se tedy spojují skupiny, jejichž těžiště leží nejbližší. Nevýhodou centroidní metody je skutečnost, že při spojování dvou skupin velmi rozdílné velikosti se těžiště nové skupiny bude nacházet velmi blízko větší skupiny (nebo i uvnitř). Tím se mohou do jisté míry ztratit vlastnosti menší skupiny.

mediánová metoda (median method, WPGMC)

Vzdálenost mezi dvěma shluky se definuje jako medián vzdáleností. Analyzované skupiny jsou považovány za stejně velké, těžiště nové skupiny je tedy vždy v polovině vzdálenosti mezi těžišti spojovaných skupin.

Wardova metoda (Wards method)

V této metodě se spojují takové shluky, u kterých dochází k minimálnímu nárůstu součtu čtverců odchylek (tzn. že je minimalizován vnitroshlukový rozptyl).

Při všech analýzách byla jako měřítko vzdálenosti objektů použita Euklidovská vzdálenost. Data byla standardizována tak, aby se průměr rovnal nule a směrodatná odchylka byla rovna jedné. Všechny analýzy byly zpracovány programem SYN-TAX 2000 (podprogram Hierarchical Classification).

Diskriminační analýza

Podobně jako PCA, i tato analýza patří k metodám, které zmenšují dimenzi znakového prostoru a zobrazují vzájemnou pozici skupin objektů. Na rozdíl od analýzy hlavních komponent však klade důraz na zachycení maximální meziskupinové variability. Pomocí této analýzy lze tedy určit, jak se předem dané skupiny objektů liší ve znacích, které máme k dispozici. Metoda však slouží pouze k testování hypotéz, neumožňuje zjistit, zda existují ještě nějaké jiné lepší skupiny pro odlišení na základě sledovaných znaků (Marhold et Suda 2002).

Kanonická diskriminační analýza (procedura CANDISC program SAS 8e) pomáhá odhalit, které znaky z určitého souboru znaků umožňují co nejlépe odlišit předem dané skupiny. Výsledkem je jedna nebo několik kanonických os, které jsou vedeny ve směru největší variability mezi skupinami. Důležitost znaku pro oddělení stanovených skupin byla zjišťována pomocí kanonických korelačních koeficientů. Ty vyjadřují míru korelace jednotlivých znaků s příslušnou kanonickou osou.

Klasifikační diskriminační analýza (procedura DISCRIM program SAS 8e) umožňuje zjistit, jaké procento rostlin je správně určeno na základě sledovaných znaků, nebo schopnost určitého souboru znaků oddělit dané skupiny.

Dále je možné tuto metodu použít pro zařazení neznámých jedinců. v tomto případě vytvoří klasifikační funkci na souboru známých jedinců (skupin) a tu pak použije na neznámé jedince.

Pro morfometrickou analýzu byla použita metoda tzv. křížového ověření (*cross-validation*). Klasifikační funkce je počítána ze všech objektů - pro každý objekt zvlášť - kromě klasifikovaného (počítá tedy s $n-1$ pozorováními). Poté je toto klasifikační kritérium aplikováno i na zbývající objekt. Tento způsob je vhodnější pro menší soubor objektů na rozdíl od resubstituce. Ta počítá pouze jedinou klasifikační funkci na základě celého datového souboru a toto kritérium pak použije na klasifikaci jednotlivých objektů. Vzhledem k tomu, že řada znaků neměla normální rozdělení, byla u procedury DISCRIM použita neparametrická metoda k-nejbližších sousedů.

6.3 Výsledky

6.3.1 Korelace znaků

V celém datovém souboru nebyly zjištěny žádné hodnoty korelačních koeficientů vyšší než 0,99 (velmi těsná korelace). Pouze dvojice znaků v7 - v9 a znaky v21 - v22 vykazovaly korelační koeficienty v rozmezí 0,95-0,96 (výstup procedury CORR se nachází v příloze C).

Také uvnitř jednotlivých skupin nedosáhla žádná dvojice znaků korelačního koeficientu 0,99.

Korelace vyšší než 0,95 byly pozorovány v těchto případech:

znaky v7 - v9	<i>D. dilatata</i>	0,959
	<i>D. × ambroseae</i>	0,956
znaky v21 - v22	<i>D. dilatata</i>	-0,958
	<i>D. expansa</i>	-0,979
znaky v4 - v36	<i>D. expansa</i>	-0,955

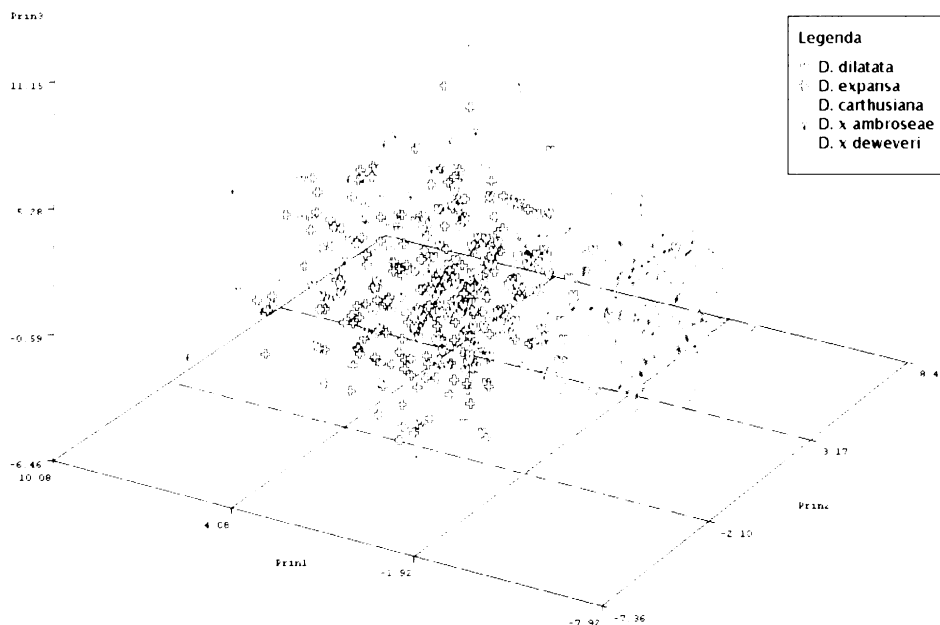
Přestože korelační koeficienty těchto znaků dosahovaly hodnot vyšších než 0,95, u všech druhů ani v rámci celého datového souboru tomu tak nebylo. Proto byly tyto znaky ponechány a zahrnuty do všech analýz.

6.3.2 Analýza hlavních komponent (PCA)

Pro náhled do prostorové struktury objektů náležejících k jednotlivým druhům byla použita analýza hlavních komponent.

Z grafického výstupu analýzy na obr. č. 6.4 je patrné, že na základě všech znaků je možné nejlépe odlišit druh *D. carthusiana*, který vytváří téměř samostatný shluk. V další analýze byl počet znaků snižen o parametry v31 - v42. Zahrnuty tedy byly pouze všechny primární znaky a několik znaků poměrových, které se na základě literatury a vlastního pozorování jevily jako nejdůležitější. Jak vyplývá z obr. č. 6.5 tohoto grafického výstupu, s použitím menšího počtu znaků je *D. carthusiana* odlišitelná ještě lépe. Zřetelnější odlišení *D. carthusiana* při menším počtu znaků je dáno větším zastoupením potenciálních skupinově-specifických charakteristik (nedochází ke stírání významných znaků ve velkém souboru znaků, které nenesou taxonomickou informaci). Obrázek č. 6.6 ilustrující rozložení objektů po vyloučení *D. carthusiana* potvrzuje absenci zřetelné struktury patrnou z předcházejících grafických výstupů, pravděpodobně způsobenou celkovou fenetickou podobností analyzovaných jedinců a převahou znaků vykazujících srovnatelné hodnoty.

Výstup analýzy hlavních komponent pro všechny znaky je uveden v příloze C a na přiloženém CD-ROMu, kde jsou i výsledky dalších analýz.



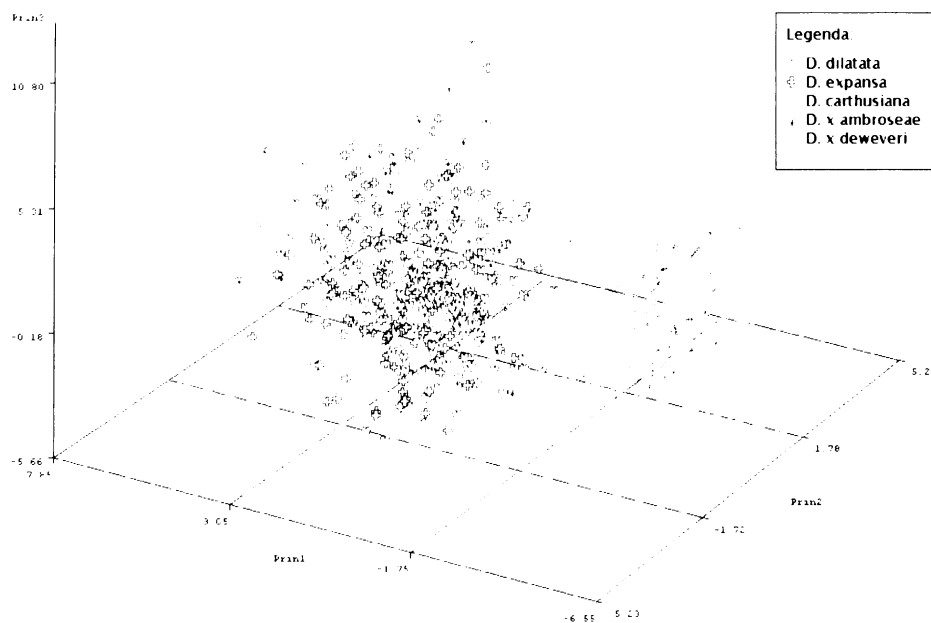
Obrázek 6.4: Grafický výstup PCA všech studovaných jedinců při zahrnutí 39 znaků.

První osa (Prin 1) zachycuje 32,6 % variability ve skupině, další osy (Prin 2 a Prin 3) 16,6% a 11,3%. Celkově tedy první tři osy vyjadřují téměř dvě třetiny celkové variability datového souboru (60,5 %). Znaky, které nejvíce přispívají k rozdělení skupin podle jednotlivých os, jsou následující:

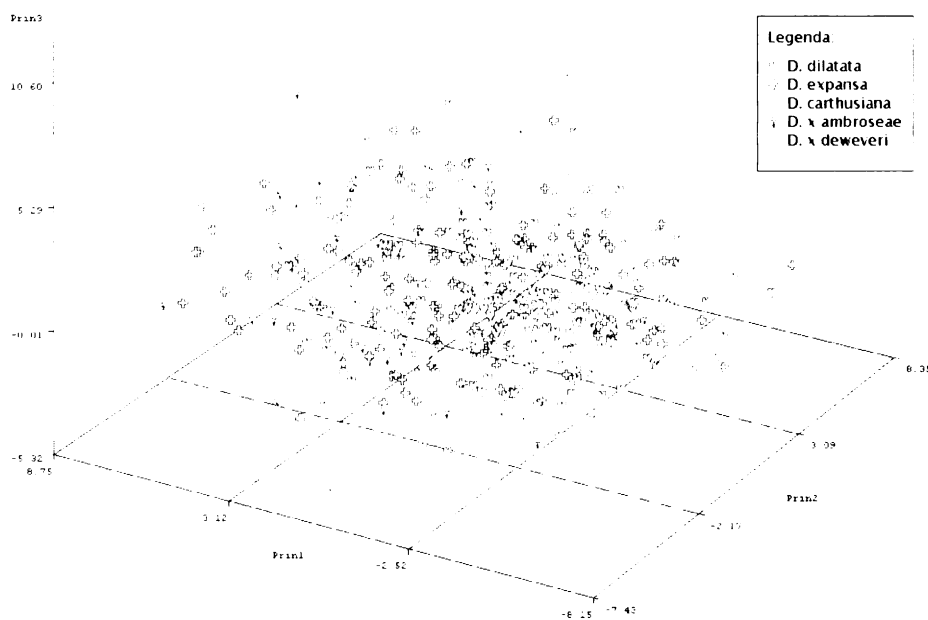
Prin1 - délka dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (v14), délka nejdelšího lístku na čepeli (v7), délka nejspodnějšího lístku (v13), šířka čepel (v9), poloha dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku od vřetene listu (v31)

Prin2 - poměr délky nejspodnějšího lístku k délce čepel (v39), poměr délky nejdelšího lístku na čepeli k délce čepel (v8), poměr délky čepel k šířce čepel (v10), vzdálenost od nejširší části čepel k bázi čepel (v12), poměr délky horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce čepel (v42)

Prin3 - vzdálenost dolního bazálního lístečku od 2. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (v19), poloha dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (v33), poloha 2. horního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k poloze dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku (v21), znak v18 k součtu znaků v18 a v19 (v22), poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (v16)



Obrázek 6.5: Grafický výstup PCA všech studovaných jedinců při použití 26 vybraných morfologických znaků. Tři zobrazené osy vysvětlují 37,5%, 13,9% a 13,1% variability.



Obrázek 6.6: Grafický výstup PCA se zahrnutím všech znaků, po vyloučení druhu *D. carthusiana*. Tři zobrazené osy vysvětlují 27,3%, 15,6% a 12,9% variability.

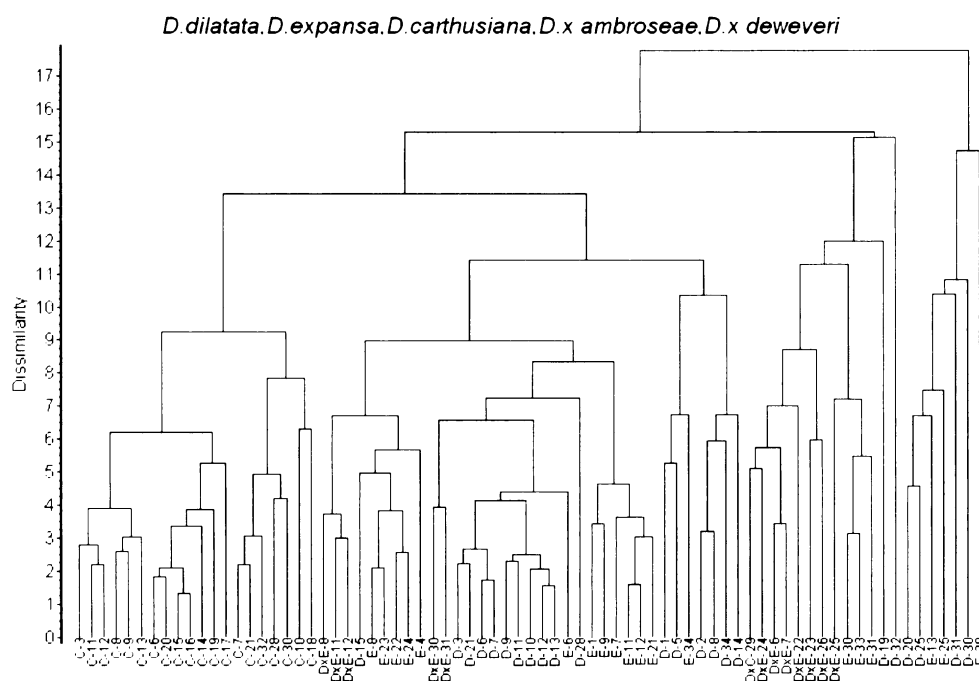
6.3.3 Shlukovací analýza

Jednotlivé metody shlukovací analýzy přinesly podobné výsledky, a proto je zde uveden pouze grafický výstup metody complete linkage. Výsledky všech analýz se nacházejí na přiloženém CD - ROMu.

Jak je patrné z obr. č. 6.7, *D. carthusiana* vytvořila zcela samostatný shluk, podobně jako u analýzy hlavních komponent. Také druh *D. × ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*) byl řazen do několika samostatných shluků, které byly provázané s jeho rodičovskými druhy.

D. dilatata a *D. expansa* žádné výrazné samostatné shluky nevytvořily, spíše byly vzájemně promíchané. Důvodem je patrně velká morfologická podobnost těchto taxonů, která ztěžuje i jejich determinaci v terénu.

Pro zajímavost byla do analýz zařazena i jedna populace (2 exempláře) *D. × deweveri* (*D. dilatata* × *carthusiana*) z lokality 29. Ta byla ve všech metodách řazena do nejbližšího shluku s *D. × ambroseae* (zřejmě na základě abortovaných spor). Vzhledem k velmi malému počtu vzorků tohoto hybrida však není možné vyvozovat nějaké závěry o jeho vztazích s ostatními taxony. Celkově však výsledky shlukovací analýzy potvrdily existenci určité struktury v naměřených datech.



Obrázek 6.7: Grafický výstup shlukovací analýzy (complete linkage) provedené na celém souboru dat.

6.3.4 Diskriminační analýza

Znaky, které přispívají k oddělení jednotlivých skupin, byly zjišťovány kanonickou diskriminační analýzou. Následovala klasifikační diskriminační analýza, pomocí které bylo určeno procento správně zařazených jedinců.

Nejprve byly analyzovány všechny druhy pohromadě. Poté byl soubor dat rozdělen vždy do dvou skupin, které byly porovnávány mezi sebou podle následujícího schématu:

- *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana*
⇔ *D. × ambroseae*, *D. × deweveri*³⁵
- *D. dilatata*, *D. expansa* ⇔ *D. carthusiana*³⁶

Dále byly i tyto skupiny rozděleny a druhy analyzovány po dvojicích:

- *D. × ambroseae* ⇔ *D. × deweveri*
- *D. dilatata* ⇔ *D. expansa*
- *D. dilatata* ⇔ *D. × ambroseae*

Pro druhy *D. × ambroseae* (38 vzorků) a *D. × deweveri* (2 vzorky) nebyl splněn požadavek diskriminační analýzy, dle kterého počet znaků musí být menší než počet objektů (zmenšený o počet skupin). Přesto byly tyto druhy zahrnuty do analýz, neboť analýza s menším počtem znaků u *D. × ambroseae* (*D. dilatata × expansa*) ukázala podobné výsledky. Zároveň bylo provedeno i porovnání výsledků analýzy všech druhů bez *D. × deweveri* (*D. dilatata × carthusiana*) a se zahrnutím tohoto druhu. Také v tomto případě se výsledky příliš nelišily (kanonické korelační koeficienty byly vysoké u stejných znaků).

³⁵s cílem zjistit znaky vhodné k odlišení kříženců od rodičovských typů

³⁶s cílem najít nejvhodnější znaky pro odlišení *D. carthusiana* od zbývajících druhů

6.3.5 Kanonická diskriminační analýza *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana*, *D. × ambroseae* a *D. × deweveri*



Obrázek 6.8: Grafický výstup kanonické diskriminační analýzy pro všechny taxony. Tři zobrazené osy vysvětlují 86,42%, 11,38% a 0,02% variability.

Proměnná	Osa 1	Osa 2	Osa 3	Proměnná	Osa 1	Osa 2	Osa 3
v4	0,404218	-0,193644	0,10602	v24	0,618557	0,014124	0,637076
v5	0,150993	-0,11755	0,282039	v25	0,967772	0,071178	-0,047246
v6	0,237224	-0,042038	-0,229063	v26	0,546561	0,115918	-0,560115
v7	0,634172	-0,100118	0,112072	v27	0,977052	0,042069	-0,143729
v8	0,468669	0,142444	0,053877	v28	0,831291	0,003644	-0,116379
v9	0,639426	-0,119969	0,054448	v29	-0,053669	0,365151	0,113637
v10	-0,463141	-0,09351	0,057389	v30	-0,195732	0,978103	-0,023197
v11	0,175965	-0,185277	0,238311	v31	0,441228	-0,116587	0,396426
v12	0,136884	-0,197677	0,084313	v32	0,200476	-0,082411	0,25565
v13	0,608105	-0,053958	0,124832	v33	0,031464	-0,095732	0,362734
v14	0,564608	-0,070211	0,446926	v34	-0,316991	-0,041165	0,125598
v15	0,397869	-0,053533	0,157463	v35	-0,388545	-0,005819	0,264435
v16	0,246309	-0,051203	0,593135	v36	0,326587	-0,176942	0,195509
v17	0,515326	-0,064193	0,511273	v37	-0,000871	0,10014	0,050563
v18	0,476622	-0,110528	0,388686	v38	0,394454	-0,062552	0,36177
v19	-0,016142	0,069607	-0,00295	v39	0,351099	0,15025	0,069307
v20	0,379388	-0,050173	0,239592	v40	-0,461834	0,007874	0,050282
v21	-0,265895	0,087438	-0,229915	v41	0,404689	0,074976	0,470546
v22	0,376889	-0,118098	0,245782	v42	0,011469	0,145967	0,113952
v23	0,94347	0,068351	0,212278				

Tabulka 6.2: Kanonické korelační koeficienty diskriminační analýzy se zahrnutím všech druhů, vč. jejich kříženců. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

Výsledky kanonické diskriminační analýzy (viz obr. č.6.8) poukazují na velkou morfologickou odlišnost druhu *D. carthusiana* od ostatních taxonů, která byla již prokázána v předchozích analýzách (PCA, shlukovací analýza). Dále se podle znaků vysoce korelovaných s druhou osou (Prin 2) oddělila skupina kříženců *D. × ambroseae* a *D. × deweveri*. Také taxony *D. dilatata* a *D. expansa* vytvořily na základě znaků korelovaných s třetí osou (Prin 3) zřetelně oddělenou skupinu.

Druh	Zařazeno k druhu					Celkem
	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. × ambroseae</i>	<i>D. × deweveri</i>	
<i>D. dilatata</i>	181 94,76	10	0	0	0	191
<i>D. expansa</i>	13 7,98	150 92,02	0	0	0	163
<i>D. carthusiana</i>	0	0	213 100,00	0	0	213
<i>D. × ambroseae</i>	0	0	0	38 100,00	0	38
<i>D. × deweveri</i>	0	0	0	0	2	2
Chybně zařazených [%]	0,00 5,24	0,00 7,98	0,00	0,00	100,00 0,00	100,00 2,64

Tabulka 6.3: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy všech taxonů se zahrnutím všech měřených znaků.

Jak ukazuje přehled výsledků neparametrické klasifikační analýzy (tab. č.6.3), na základě všech znaků je možné správně klasifikovat 97,36% rostlin.

Druh	Zařazeno k druhu					Celkem
	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>	<i>D. carthusiana</i>	<i>D. × ambroseae</i>	<i>D. × deweveri</i>	
<i>D. dilatata</i>	181 94,76	10	0	0	0	191
<i>D. expansa</i>	11 6,75	152 93,25	0	0	0	163
<i>D. carthusiana</i>	0	0	213 100,00	0	0	213
<i>D. × ambroseae</i>	0	0	0	38 100,00	0	38
<i>D. × deweveri</i>	0	0	0	0	2	2
Chybně zařazených [%]	0,00 5,24	0,00 6,75	0,00	0,00	100,00 0,00	100,00 2,40

Tabulka 6.4: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy všech taxonů pro znaky v16, v23, v24, v25, v27, v28 a v30.

Při omezení vstupního souboru dat na 7 znaků, u kterých byly absolutní hodnoty kanonických korelačních koeficientů u os 1 a 2 $> 0,80$ a u osy 3 $> 0,56$, bylo možné správně určit 97,6 % zahrnutých rostlin (tab. č. 6.4). Výrazné snížení počtu znaků tedy vede ke srovnatelnému (resp. dokonce nepatrně lepšímu) výsledku týkající se podílu správně určených jedinců.

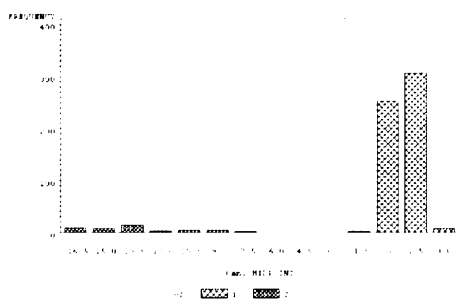
Ačkoliv souhrnná analýza přinesla velice uspokojivé oddělení jednotlivých skupin, byly provedeny další analýzy zaměřené na odlišení úžeji vymezených skupin objektů či dvojice taxonů.

6.3.6 Kanonická diskriminační analýza *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana* versus *D. × ambroseae* a *D. × deweveri*

Celá skupina byla rozdělena na dva soubory:

- soubor, ve kterém byly zahrnuty všechny znaky
- soubor, ve kterém byl vynechán znak charakterizující kvalitu spor (v30)

a. soubor obsahující všechny znaky



Obrázek 6.9: Kanonická diskriminační analýza skupiny *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana* (řidká šrafa) a *D. × ambroseae*, *D. × deweveri* (hustá šrafa).

Proměnná	Osa 1	Proměnná	Osa 1
v4	-0,278612	v24	-0,127376
v5	-0,151517	v25	-0,13314
v6	-0,08916	v26	0,006614
v7	-0,235506	v27	-0,162218
v8	0,039621	v28	-0,17487
v9	-0,254101	v29	0,366604
v10	0,0042	v30	0,997516
v11	-0,222942	v31	-0,213302
v12	-0,224838	v32	-0,126598
v13	-0,183991	v33	-0,105073
v14	-0,194528	v34	0,025708
v15	-0,13912	v35	0,07268
v16	-0,109609	v36	-0,246601
v17	-0,17848	v37	0,099547
v18	-0,214874	v38	-0,150781
v19	0,070375	v39	0,07282
v20	-0,133057	v40	0,105475
v21	0,145203	v41	-0,017845
v22	-0,198319	v42	0,140161
v23	-0,136113		

Obrázek 6.10: Kanonické korelační koeficienty pro obě skupiny (taxony versus kříženci) se zahrnutím všech znaků. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

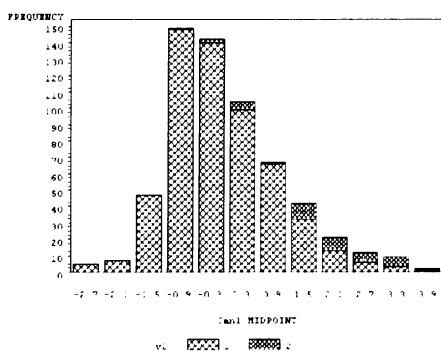
Z výsledků vyplývá jednoznačná odlišnost obou skupin, která byla potvrzena i přiřazením všech rostlin k odpovídající skupině v neparametrické klasifikační diskriminační analýze. Jak je vidět z tabulky č. 6.5, s použitím všech znaků je možné správně klasifikovat 100% rostlin.

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D, E, C</i>	<i>D</i> × <i>E</i> , <i>D</i> × <i>C</i>	Celkem
<i>D, E, C</i>	567	0	567
	100,00	0,00	100,00
<i>D</i> × <i>E</i> , <i>D</i> × <i>C</i>	0	40	40
	0,00	100,00	100,00
Chybně zařazených [%]	0,00	0,00	0,00

Tabulka 6.5: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro všechny znaky. Pozn.: *D, E, C* – *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana*; *D* × *E*, *D* × *C* – *Dryopteris* × *ambroseae*, *Dryopteris* × *deweveri*.

Následná analýza při zahrnutí pouhého jednoho znaku (v30 - kvalita spor) přinesla stejný výsledek (100% správně klasifikovaných rostlin). Proto byl dále zjišťován význam tohoto znaku v následující kanonické a klasifikační analýze (viz obr. č. 6.11 a tab. č. 6.6).

b. soubor obsahující všechny znaky kromě parametru „kvalita spor” (v30)



Obrázek 6.11: Kanonická diskriminační analýza skupiny *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana* (řídká šrafa) a *D. × ambroseae*, *D. × deweveri* (hustá šrafa) bez znaku v30.

Proměnná	Osa 1	Proměnná	Osa 1
v4	0,611245	v23	0,298617
v5	0,332412	v24	0,27945
v6	0,195609	v25	0,292094
v7	0,516676	v26	-0,014511
v8	-0,086923	v27	0,35589
v9	0,557471	v28	0,383647
v10	-0,009215	v31	0,467962
v11	0,489112	v32	0,277743
v12	0,49327	v33	0,230518
v13	0,403657	v34	-0,0564
v14	0,426774	v35	-0,159452
v15	0,305215	v36	0,541017
v16	0,240471	v37	-0,218396
v17	0,391566	v38	0,330798
v18	0,47141	v39	-0,159759
v19	-0,154395	v40	-0,231401
v20	0,291913	v41	0,039151
v21	-0,31856	v42	-0,307497
v22	0,435092		

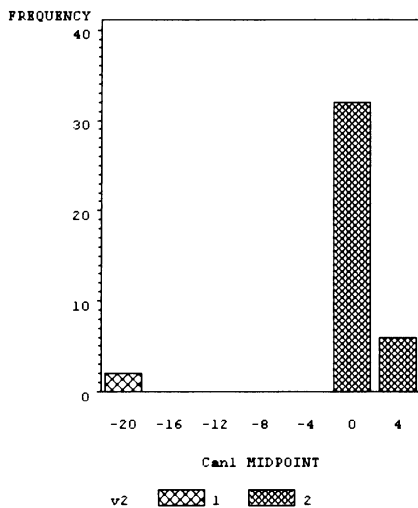
Obrázek 6.12: Kanonické korelační koeficienty pro dvě skupiny objektů (taxony versus kříženci) bez znaku v30. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

Výsledky kanonické diskriminační analýzy prokázaly důležitost znaku v30 (kvalita spor), bez kterého dochází k vzájemnému překryvu obou skupin. Také z klasifikační diskriminační analýzy v tab. č.6.6 je patrné, že bez výše zmiňovaného znaku je v celém souboru možné správně klasifikovat pouze 77,9% rostlin.

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D, E, C</i>	<i>D × E, D × C</i>	Celkem
<i>D, E, C</i>	458	109	567
	80,78	19,22	100,00
<i>D × E, D × C</i>	10	30	40
	25,00	75,00	100,00
Chybně zařazených [%]	19,22	25,00	22,11

Tabulka 6.6: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy bez znaku v30 (kvalita spor). Pozn.: *D, E, C* – *D. dilatata*, *D. expansa*, *D. carthusiana*; *D × E, D × C* – *Dryopteris × ambroseae*, *Dryopteris × deweveri*.

6.3.7 Kanonická diskriminační analýza *D. × ambroseae* a *D. × deweveri*



Obrázek 6.13: Kanonická diskriminační analýza druhů *D. × ambroseae* (řidká šrafa) a *D. × deweveri* (hustá šrafa).

Proměnná	Osa 1	Proměnná	Osa 1
v4	-0,137819	v24	0,179356
v5	0,019967	v25	0,612617
v6	-0,127515	v26	0,167063
v7	-0,085708	v27	0,639738
v8	0,094422	v28	-0,567986
v9	0,033472	v29	-0,017167
v10	-0,266501	v30	-0,200898
v11	-0,035448	v31	0,118896
v12	-0,072464	v32	0,086679
v13	0,030164	v33	0,131765
v14	0,179865	v34	0,073997
v15	0,04278	v35	-0,012517
v16	0,307079	v36	-0,086985
v17	0,289166	v37	0,225342
v18	0,113298	v38	0,024082
v19	-0,115283	v39	0,166596
v20	0,082478	v40	0,027777
v21	-0,120583	v41	0,267621
v22	0,155281	v42	0,1667
v23	0,303203		

Obrázek 6.14: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *D. × ambroseae* a *D. × deweveri*. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

I u těchto dvou druhů je patrná dobrá morfologická diference, která se jednoznačně prokázala i v klasifikační diskriminační analýze.

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D. × deweveri</i>	<i>D. × ambroseae</i>	Celkem
<i>D. × deweveri</i>	2	0	2
	100,00	0,00	100,00
<i>D. × ambroseae</i>	0	38	38
	0,00	100,00	100,00
Chybně zařazených [%]	0,00	0,00	0,00

Tabulka 6.7: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro všechny znaky.

Při zahrnutí všech 39 znaků bylo možné správně klasifikovat 100% rostlin (viz tab. č.6.7). I při omezení vstupního souboru na tři morfologické znaky (v25, v27, v28) s absolutními hodnotami kanonických korelačních koeficientů $> 0,50$ (tab. č. 6.14) bylo dosaženo stejného výsledku (100% správně určených

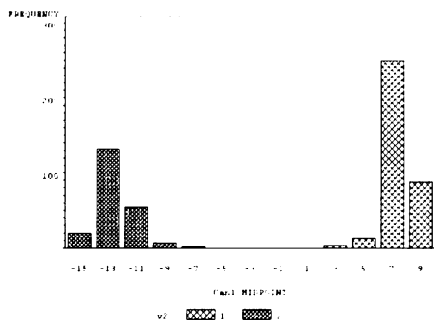
Druh	Zařazeno k druhu		Celkem
	<i>D. × deweveri</i>	<i>D. × ambroseae</i>	
<i>D. × deweveri</i>	2	0	2
	100,00	0,00	100,00
<i>D. × ambroseae</i>	4	34	38
	10,53	89,47	100,00
Chybně zařazených [%]	0,00	10,53	5,26

Tabulka 6.8: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro znaky v16, v17 a v23.

rostlin). Samotné morfologické znaky v25 a v28 v jednotlivých analýzách umožnily správně určit 97,37 % rostlin (výsledky nejsou zobrazeny).

Vzhledem k malému počtu vzorků obou druhů (*D. × ambroseae* - 38, *D. × deweveri* - 2) a úspěšnému zařazení analyzovaných rostlin na základě dosti variabilních znaků plevin a žlázek (v25, v27, v28), byla ještě provedena klasifikační diskriminační analýza se znaky, jejichž absolutní hodnoty kanonických korelačních koeficientů byly $> 0,29$. Jak je vidět z tabulky č.6.8 použití další trojice znaků v16, v17 a v23 umožnilo určit 94,74% rostlin. Samostatné použití dalších znaků již přineslo pouze nižší úspěšnost klasifikace.

6.3.8 Kanonická diskriminační analýza *D. dilatata*, *D. expansa* versus *D. carthusiana*



Proměnná	Osa 1	Proměnná	Osa 1
v4	0,390612	v24	0,636468
v5	0,138625	v25	0,971694
v6	0,225914	v26	0,542127
v7	0,638299	v27	0,974843
v8	0,505758	v28	0,834878
v9	0,639055	v29	0,026962
v10	-0,478256	v30	0,015795
v11	0,152814	v31	0,443262
v12	0,107271	v32	0,195086
v13	0,61727	v33	0,022878
v14	0,577781	v34	-0,3205
v15	0,40737	v35	-0,379521
v16	0,254913	v36	0,309736
v17	0,525445	v37	0,019951
v18	0,47994	v38	0,403092
v19	-0,001292	v39	0,390133
v20	0,380066	v40	-0,465746
v21	-0,254417	v41	0,43824
v22	0,370204	v42	0,044675
v23	0,956691		

Obrázek 6.15: Kanonická diskriminační analýza skupiny *D. dilatata*, *D. expansa* (řidká šrafa) a *D. carthusiana* (hustá šrafa).

Obrázek 6.16: Kanonické korelační koeficienty pro skupinu *D. dilatata*, *D. expansa* s *D. carthusiana*. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

Z grafického výstupu kanonické diskriminační analýzy je zřejmá velká morfologická odlišnost obou skupin, která se jednoznačně prokázala i při použití klasifikační diskriminační analýzy. Při zahrnutí všech znaků bylo možné správně určit 100% rostlin (viz. tab. č.6.9).

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D, E</i>	<i>D. carthusiana</i>	Celkem
<i>D, E</i>	354	0	354
	100,00	0,00	100,00
<i>D. carthusiana</i>	0	213	213
	0,00	100,00	100,00
Chybně zařazených [%]	0,00	0,00	0,00

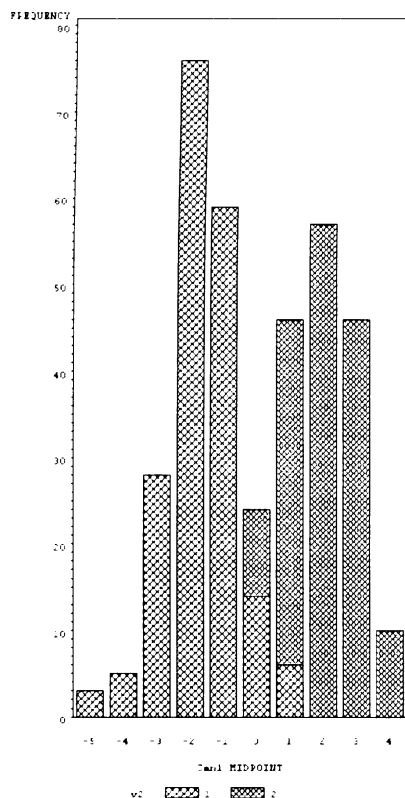
Tabulka 6.9: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro všechny znaky. Pozn.: D,E - *D. dilatata*, *D. expansa*.

I při omezení vstupního souboru dat na jeden znak (v27 nebo v25) s absolutní hodnotou kanonického korelačního koeficientu $> 0,97$, byly všechny rostliny spolehlivě přiřazeny k příslušné skupině (100% správně klasifikovaných rostlin).

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D, E</i>	<i>D. carthusiana</i>	Celkem
<i>D, E</i>	353	1	354
	99,72	0,28	100,00
<i>D. carthusiana</i>	0	213	213
	0,00	100,00	100,00
Chybně zařazených [%]	0,28	0,00	0,14

Tabulka 6.10: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro znak v23 (celková délka plevin). Pozn.: D,E - *D. dilatata*, *D. expansa*.

Jak je patrné z tab. č.6.10, použití dalších jednotlivých znaků (v23 nebo v28) s absolutními hodnotami kanonických korelačních koeficientů $> 0,80$ umožnilo ještě správně klasifikovat 99,86% rostlin. Samostatné použití dalších znaků již přineslo pouze nižší úspěšnost klasifikace.

6.3.9 Kanonická diskriminační analýza *D. dilatata* a *D. expansa*

Proměnná	Osa 1	Proměnná	Osa 1
v4	0,106769	v24	0,768237
v5	0,341266	v25	-0,342505
v6	-0,290453	v26	-0,680043
v7	0,120601	v27	-0,74335
v8	0,045759	v28	-0,274171
v9	0,033319	v29	0,16884
v10	0,113515	v30	-0,011095
v11	0,280019	v31	0,466015
v12	0,090471	v32	0,314117
v13	0,138343	v33	0,449325
v14	0,549082	v34	0,226831
v15	0,177906	v35	0,418326
v16	0,652194	v36	0,223687
v17	0,611107	v37	0,068147
v18	0,445987	v38	0,449648
v19	-0,002096	v39	0,06906
v20	0,264456	v40	0,105683
v21	-0,282326	v41	0,538747
v22	0,280729	v42	0,138027
v23	0,563872		

Obrázek 6.18: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *D. dilatata* a *D. expansa*. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

Obrázek 6.17: Kanonická diskriminační analýza druhů *D. dilatata* (řídka šrafa) a *D. expansa* (hustá šrafa).

Taxony *D. dilatata* a *D. expansa* jsou si z morfologického hlediska velmi podobné a jejich odlišení není jednoduché.

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>	Celkem
<i>D. dilatata</i>	183	8	191
	95,81	4,19	100,00
<i>D. expansa</i>	12	151	163
	7,36	92,64	100,00
Chybně zařazených [%]	4,19	7,36	5,78

Tabulka 6.11: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro všechny znaky.

I z výsledků kanonické diskriminační analýzy je patrný částečný vzájemný překryv obou druhů.

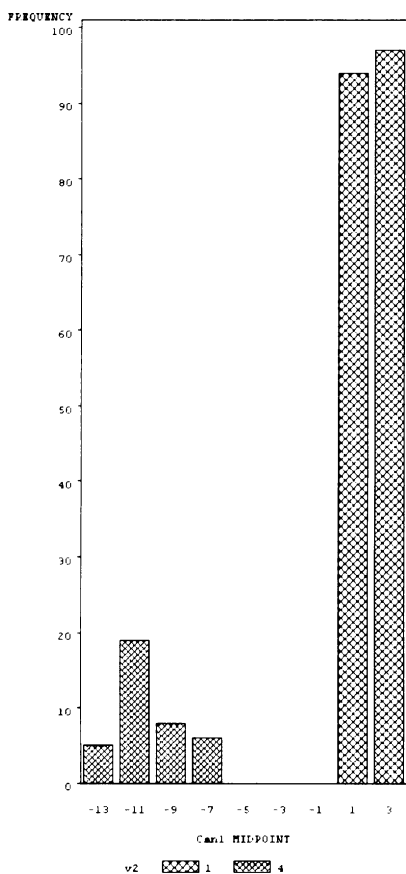
Jak vyplývá z tabulky č. 6.11, při zařazení všech znaků do klasifikační diskriminační analýzy bylo možné správně určit 94,23% rostlin.

Při omezení vstupního souboru dat na tři znaky (v16, v24, v27) s absolutními hodnotami kanonických korelačních koeficientů $> 0,64$ je možné klasifikovat srovnatelný počet jedinců - 94,19% rostlin (viz. tab. č. 6.12). S dalšími kombinacemi a menším počtem znaků se procento správně určených rostlin již výrazně snižovalo.

Druh	Zařazeno k druhu		
	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>	Celkem
<i>D. dilatata</i>	177	14	191
	92,67	7,33	100,00
<i>D. expansa</i>	7	156	163
	4,29	95,71	100,00
Chybně zařazených [%]	7,33	4,29	5,81

Tabulka 6.12: Výsledek klasifikační diskriminační analýzy pro znaky v16, v24, v27.

6.3.10 Kanonická diskriminační analýza *D. dilatata* a *D. × ambroseae*



Obrázek 6.19: Kanonická diskriminační analýza druhů *D. dilatata* (řídká šrafa) a *D. × ambroseae* (hustá šrafa).

Pro zjištění morfologických rozdílů mezi rodičovským druhem a jeho křížencem byla provedena analýza taxonů *D. dilatata* a *D. × ambroseae*. I u těchto dvou druhů se potvrdila dobrá diferenciacce, která se jednoznačně prokázala i při použití klasifikační diskriminační analýzy. Při zahrnutí všech morfologických znaků byly všechny rostliny spolehlivě přiřazeny k příslušnému taxonu (tab. č. 6.13).

Proměnná	Osa 1	Proměnná	Osa 1
v4	-0.3341	v24	-0.294141
v5	-0.331964	v25	0,379047
v6	0.034931	v26	0,36723
v7	-0.217772	v27	0,480046
v8	0.208158	v28	0.126302
v9	-0.232887	v29	0,475208
v10	-0.209217	v30	0,995294
v11	-0,40162	v31	-0.357566
v12	-0.296948	v32	-0.247268
v13	-0.146289	v33	-0.306315
v14	-0.325929	v34	-0.14826
v15	-0.134828	v35	-0.134576
v16	-0.32876	v36	-0,370597
v17	-0.347621	v37	0.113615
v18	-0.34474	v38	-0.251985
v19	0.106224	v39	0.191062
v20	-0.184966	v40	-0.011869
v21	0.214225	v41	-0.101954
v22	-0.270594	v42	0.16011
v23	0.030535		

Obrázek 6.20: Kanonické korelační koeficienty pro druhy *D. dilatata* a *D. × ambroseae*. Nejvyšší hodnoty jsou zvýrazněny.

Druh	Zařazeno k druhu		Celkem
	<i>D. dilatata</i>	<i>D. × ambroseae</i>	
<i>D. dilatata</i>	191	0	191
	100,00	0,00	100,00
<i>D. × ambroseae</i>	0	38	38
	0,00	100,00	100,00
Chybně zařazených [%]	0,00	0,00	0,00

Tabulka 6.13: Výsledky klasifikační diskriminační analýzy pro všechny znaky.

Také pouhý jeden znak (v30 - kvalita spor) s nejvyšší hodnotou absolutního kanonického korelačního koeficientu (0,99) umožnil správně klasifikovat 100% rostlin (výsledky nezobrazeny).

Druh	Zařazeno k druhu		Celkem
	<i>D. dilatata</i>	<i>D. × ambroseae</i>	
<i>D. dilatata</i>	175	16	191
	91,62	8,38	100,00
<i>D. × ambroseae</i>	5	33	38
	13,16	86,84	100,00
Chybně zařazených [%]	8,38	13,16	10,77

Tabulka 6.14: Výsledky klasifikační diskriminační analýzy pro znaky v11, v17, v25, v26, v27, v29, v36.

Dále byla provedena klasifikační diskriminační analýza, do které bylo ze vstupního souboru dat vybráno sedm znaků (v11, v17, v25, v26, v27, v29, v36) s nejvyššími absolutními hodnotami kanonických korelačních koeficientů (0,36-0,48; bez znaku v30). Jak ukazují výsledky uvedené v tab. č. 6.14, tyto znaky umožnily správně klasifikovat jen 89,23% rostlin a samostatné použití dalších znaků již přineslo pouze nižší úspěšnost klasifikace.

Také u kanonické a klasifikační diskriminační analýzy *D. expansa* versus *D. × ambroseae* bylo dosaženo srovnatelných výsledků (nejsou zobrazeny, ale jsou součástí příloženého CD-ROMu). Oba druhy byly jednoznačně odlišeny na základě jediného znaku v30 (kvalita spor). Další znaky spolehlivost klasifikace již jen snižovaly (k příslušnému druhu bylo správně přiřazeno < 90% rostlin).

6.4 Shrnutí výsledků

Z výsledků morfometrických analýz jednoznačně vyplývá, že nejlépe diferencovaným druhem z celého komplexu je *D. carthusiana*. Znaky, které nejvíce přispívají k tomuto odlišení, se týkají především plevin na řapíku a žlázek na spodní straně větene listu. Pro tento taxon jsou tedy typické malé pleviny (v23), absence středního žebra plevin (v25, v27) a velmi nízký počet žlázek (v28). Již pouhý jeden znak z tohoto souboru umožnil správně klasifikovat 99,86 - 100 % rostlin.

U dalších druhů nebyla v PCA ani ve shlukovacích analýzách patrna výrazná struktura. Bližší průzkum pomocí diskriminačních analýz však ukázal jisté morfologické odlišnosti.

Jednou z problematických skupin byli kříženci, kteří mají obvykle znaky od obou rodičovských druhů, což velmi ztěžuje jejich determinaci. V diskriminačních analýzách se ale ukázali jako dobře odlišitelní a to pouze na základě jednoho znaku - kvalita spor (v30). Velké množství abortovaných spor tyto křížence (*D. × deweveri*, *D. × ambroseae*) natolik odlišilo od rodičovských druhů, že bylo možné správně klasifikovat 100 % rostlin. Také ze vzájemného porovnání těchto taxonů byla patrná poměrně zřetelná morfologická diference. Jako nejlepší znak se ukázal poměr délky středního žebra plevin k jejich celkové délce (v27) a počet žlázek na větenu listu (v28). Oba zmínované znaky umožnily jednoznačné zařazení rostlin k příslušnému taxonu. Vzhledem ke vzácnosti *D. × deweveri* však byl k dispozici pouze malý počet jedinců, výstupy je proto nutné interpretovat obezřetně (vybrané taxonomicky významné znaky bývají nezřídka označovány jako variabilní i v rámci jedné rostliny). Proto byly hledány další znaky, které by umožnily spolehlivější determinaci. Na základě dalších tří znaků (v16, v17 a v23) bylo možné správně klasifikovat 94,74 % rostlin. Znak v16 (poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce celého lístku - PU1/Pi) je obvykle udáván jako jeden z nejdůležitějších parametrů pro odlišení *D. expansa*. Také u *D. × ambroseae* (*D. dilatata × expansa*) se jevil jako významný. Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku byl u tohoto hybridu delší než polovina celého lístku, zatímco u *D. × deweveri* byl zřetelně kratší. I další znak (v17), který odlišuje oba křížence je udáván pro *D. expansa*. Tím je poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce horního bazálního lístečku (PU1/PU2). U *D. × ambroseae* je dolní bazální lísteček obvykle 2x a více delší než horní lísteček, zatímco u *D. × deweveri* je tento poměr menší. Poslední znak (v23) se týká opět plevin, a to jejich celkové délky (u *D. × ambroseae* jsou delší).

D. expansa a *D. dilatata* jsou si z celého komplexu *D. dilatata* morfologicky nejbližší. To je patrné i z výsledků kanonické diskriminační analýzy

(viz. obr. č. 6.17), kde dochází k vzájemnému překryvu obou druhů i při použití všech znaků. I přesto se podařilo nalézt tři znaky (v16, v24 a v27), které umožnily správně určit 94,19 % rostlin. Opět se jedná o délku dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce celého lístku (v16), která je uváděna ve většině určovacích klíčů. K dalším znakům patří největší šířka plevin (v24) a poměr délky středního žebra plevin k jejich celkové délce (v27).

Podrobnější přehled výsledných hodnot všech znaků se nachází v příloze C. Nejvýznamnější znaky z diskriminační analýzy byly použity pro vytvoření klíče k určování jednotlivých druhů, který je uveden v následující kapitole.

7 Klíč k určování druhů

- 1a Spory abortované (zcela nebo $\geq 50\%$) 2
 1b Spory vyvinuté (90-100 % plně vyvinutých spor) 3

- 2a Spodní strana čepele slabě žláznatá. Pleviny ve střední části řapíku (8,0-) 9,0-14,4 (-15,9)³⁷ mm dlouhé, s tmavým středním žebrem, které dosahuje do špičky nebo tmavou skvrnou na bázi - poměry délky střed. žebra ku délce pleviny (0,51-) 0,53-1,00. Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je stejně dlouhý nebo delší než polovina délky celého nejspodnějšího lístku - poměr: (0,33-) 0,34-0,57 (-0,65). Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je zpravidla 2x a více delší než horní bazální lísteček nejspodnějšího lístku - poměr: (1,58-) 1,61-2,69 (-2,88).

..... *D. × ambroseae* Fraser-Jenkins et Jermy
 (*D. dilatata × expansa*)

- 2b Spodní strana čepele velmi hustě žláznatá. Pleviny ve střední části řapíku 9,0-10,4 mm dlouhé, s tmavou skvrnou na bázi nebo jednobarvné (světlehnědé) - poměr délky střed. žebra ku délce pleviny 0,35-0,39. Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je zřetelně kratší než polovina délky celého nejspodnějšího lístku - poměr: 0,30-0,41. Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je 1,5x delší než horní bazální lísteček nejspodnějšího lístku - poměr: 1,39-1,91.

..... *D. × deweveri* (Jansen) Jansen et Wachter
 (*D. dilatata × carthusiana*)

³⁷ (min-) 5% - 95% (-max)

- 3a Rostliny na spodní straně čepele jsou téměř lysé nebo velmi řídce žláznaté (1-6 žlázek na větvení listu). Řapík a hlavní větveno listu s roztroušenými, světle hnědými plevinami bez středního žebra, délka plevin < 10 mm: (4,0-) 4,4-6,5 (-8,4) mm.

..... *D. carthusiana* (Vill.) H. P. Fuchs

- 3b Rostliny na spodní straně čepele hustě žláznaté. Řapík a hlavní větveno listu s ± hustými, tmavohnědými plevinami se středním žebrem, délka plevin obvykle > 10 mm: (6,7-) 11,0-15,4 (-17,0) mm.

..... 4

- 4a Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je stejně dlouhý nebo trochu delší než polovina délky celého nejspodnějšího lístku - poměr: (0,23-) 0,38-0,59 (-0,65). Pleviny ve střední části řapíku (2,4-) 4,0-6,4 (7,4) mm široké, nejčastěji s tmavou skvrnou na bázi - poměr délky střed. žebra ku délce pleviny: (3,9-) 5,3-10,0. Spory světle hnědé.

..... *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy

- 4b Dolní bazální lísteček nejspodnějšího lístku je zpravidla kratší než polovina délky celého nejspodnějšího lístku - poměr: (0,16-) 0,24-0,52 (-0,70). Pleviny ve střední části řapíku (1,5-) 2,3-4,4 (-11,9) mm široké, poměr délky střed. žebra ku délce pleviny: (6,6-) 8,2-10,0. Spory tmavě hnědé.

..... *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray

8 Diskuse

Předložená práce si kladla za cíl provést kritické biosystematické zhodnocení okruhu *D. dilatata* s použitím cytometrických a morfometrických metod. Průtoková cytometrie umožnila jednoznačnou definici skupin na základě velikosti genomu a teprve poté byla sledována důležitost a variabilita morfologických znaků u jednotlivých druhů. Tím se tento postup zcela odlišuje od dřívějších publikací (Piekos-Mirkowa 1979, Ekrt 2000 aj.), jejichž autoři vždy nejprve vymezili jednotlivé taxony na základě celkové morfologie a teprve poté mezi nimi hledali taxonomicky významné znaky. Tento způsob však není spolehlivý, neboť závisí nejen na podmínkách prostředí, ale také na subjektivním hodnocení pozorovatele. Oproti tomu je vymezení taxonů na základě relativního obsahu jaderné DNA (resp. velikosti genomu) zcela jednoznačné. Jak ukazují současné výzkumy, velikost genomu je v rámci druhu konstantní, zatímco rozdíly mnohdy existují i mezi blízce příbuznými druhy (Murray 2004). Tato charakteristika tedy často dovoluje odlišit i taxony se stejným počtem chromozómů - např. u r. *Elytrigia* (Mahelka et al. 2005), *Hypochaeris* (Cerbah et al. 1999), *Helleborus* (Zonneveld 2001), *Cirsium* (Bureš et al. 2004), *Lilium* (Siljak-Yakovlev et al. 2003) a další. Studie některých polyploidních kapradin (*Polypodiophyta*) založené na zjišťování velikosti genomu dokonce umožnily i detekci kříženců jednotlivých druhů. Například v komplexu *Polypodium vulgare* byl pomocí průtokové cytometrie³⁸ potvrzen výskyt křížence *Polypodium × mantoniae* Rothm. (*P. interjectum* × *vulgare*) na třech lokalitách v České republice (Bureš et al. 2003).

Také v komplexu *D. dilatata* byl cytometrickou analýzou prokázán hojný výskyt kříženců *D. dilatata* × *expansa* (*D. × ambroseae*) na 13-ti lokalitách v České Republice. Dosud byla uváděna pouze jediná lokalita výskytu tohoto hybridu z okolí Písku (Chrtek 1988, Dostál 1989). Z výsledků této práce však vyplývá, že rodičovské druhy *D. dilatata* a *D. expansa* se ve smíšených populacích vyskytují poměrně často, a proto lze očekávat tohoto hybridu i na dalších místech. Zcela jiná situace je u dalšího potvrzeného hybridu *D. × deweveri* (*D. carthusiana* × *dilatata*). Ten je dle Chrtka (Chrtek 1988) uváděn jako nejčastější a hojně rozšířený na celém území České republiky. Tento údaj je však zcela v rozporu s výsledky této studie, neboť výskyt tohoto křížence byl potvrzen pouze na jedné lokalitě v oblasti Českomoravské vrchoviny. Další výskyt *D. × deweveri*, který byl v předchozí studii (K. Kubát - ústní sdělení) cytometricky ověřen i na jedné lokalitě v Českém středohoří (Kamenec), se v rámci této práce nepodařilo potvrdit. Nejnovější terénní prů-

³⁸Stejně jako v této práci bylo relativní množství jaderné DNA stanovováno pomocí fluorescenčního barviva DAPI a jako standard byla použita *Vicia faba*.

zkumy spojené s cytometrickým ověřením a provedené v tomto roce (2006) vedly k objevení další lokality v Broumovských stěnách (leg. L. Ekrt). I přesto lze považovat výskyt tohoto křížence za mnohem vzácnější, než se dosud předpokládalo.

Dalším zajímavým výsledkem tohoto výzkumu je objevení zcela nových lokalit druhu *D. expansa*. Tento taxon nebyl dlouho na území České republiky rozeznáván, a proto jeho rozšíření nebylo dostatečně zmapováno. Ani dosud udávané lokality výskytu uváděné v některých publikacích (Chrtek 1988, Chán 1999, Ekrt 2000) nelze považovat za věrohodné, neboť se opírají výhradně o morfologické znaky, na základě kterých často dochází k záměnám s velmi podobným druhem *D. dilatata*. Také poměrně masivní hybridizace, ke které může dle výsledků této studie docházet, spolehlivost literárních údajů velmi snižuje. Z oblasti Českého středohoří, na které byla tato práce zaměřena především, bylo cytometricky ověřeno šest lokalit *D. expansa*. Z toho byly potvrzeny dvě dosud známé lokality (K. Kubát - ústní sdělení). Další výskyt tohoto druhu byl zaznamenán i na dalších místech České republiky, z čehož je zřejmé, že *D. expansa* je rozšířena více než se dosud předpokládalo.

Dále byly v rámci této práce pomocí morfometrických analýz sledovány morfologické znaky všech cytologicky ověřených taxonů (včetně jejich kříženců) a hodnocen jejich přínos pro determinaci. Z dosavadních údajů uváděných v klíčích (např. Chrtek 1988, Kubát et al. 2002) se ukázaly jako užitečné pouze některé parametry. Porovnání hodnot znaků udávaných v literatuře s výsledky této studie je uvedeno v tabulce č. 8.1.

Jedním z nejčastěji udávaných znaků pro odlišení *D. dilatata* a *D. expansa* je poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku (PU1/Pi). Dle většiny autorů (Buchtová 1998, Ekrt 2000, Piekos-Mirkowa 1979 aj.) je tento znak i přes jistý překryv variačního rozpětí pro determinaci těchto taxonů nejvhodnější. Také na základě výsledků diskriminační analýzy prováděné u těchto dvou druhů tento znak spolu s dvěma dalšími znaky (největší šířka plevin, poměr délky středního žebra plevin k jejich celkové délce) umožnil správně klasifikovat 94,19 % rostlin. Jak je ale patrné z tab. č. 8.1, naměřené hodnoty pro oba taxony se nejen překrývají, ale u *D. dilatata* jsou maximální hodnoty tohoto znaku dokonce vyšší než u *D. expansa*. Navíc je tento znak významný i u *D. × ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*), neboť bazální lísteček nejspodnějšího lístku je zde stejně dlouhý nebo delší než polovina délky celého lístku jako u *D. expansa*.

Znak	Zdroj	<i>D. dilatata</i>	<i>D. expansa</i>	<i>D. carthusiana</i>
L/PE	Hol	(0,92 -) 1,79 (- 4,63)	(1,03 -) 1,58 (- 3,48)	(0,84 -) 1,50 (- 3,31)
	Ek	(0,60 -) 1,60 (- 2,90)	(0,80-) 1,59 (-2,70)	(0,55 -) 1,42 (- 4,10)
	Buch	-	-	-
	Chrt	> 1	1	1
	Dos	2 - 3	1	> 1
	P-M	(0,98 -) 1,64 (- 2,49)	(1,04 -) 1,52 (- 2,80)	(0,81 -) 1,22 (- 2,33)
L/SC	Hol	(0,99 -) 1,50 (- 2,03)	(1,04 -) 1,54 (- 2,26)	(1,12 -) 1,80 (- 2,74)
	Ek	(0,35 -) 1,40 (- 2,20)	(0,65 -) 1,45 (- 3,25)	(0,70 -) 1,62 (- 2,80)
	Buch	(1,30 -) 1,60 (- 1,95)	(1,21 -) 1,49 (- 1,86)	-
	Chrt	1 - 2	1 - 2	2 - 4 (- 5)
	Dos	-	-	2,5 - 4
	P-M	(0,95 -) 1,70 (- 3,15)	(1,05 -) 1,44 (- 2,44)	(1,23 -) 2,22 (- 4,26)
PU1/Pi	Hol	(0,16 -) 0,38 (- 0,70)	(0,23 -) 0,49 (- 0,65)	(0,21 -) 0,39 (- 0,60)
	Ek	(0,22 -) 0,40 (- 0,69)	(0,31 -) 0,51 (- 0,83)	(0,28 -) 0,42 (- 0,87)
	Buch	(0,33 -) 0,42 (- 0,55)	(0,46 -) 0,55 (- 0,69)	-
	Chrt	< 0,5	≥ 0,5	< 0,5
	Dos	0,33 - 0,5	≥ 0,5	-
	P-M	(0,19 -) 0,35 (- 0,53)	(0,33 -) 0,49 (- 0,61)	(0,26 -) 0,40 (- 0,50)
PU1/PU2	Hol	(0,92 -) 1,75 (- 3,56)	(1,26 -) 2,20 (- 3,10)	(0,77 -) 1,50 (- 2,44)
	Ek	(0,75 -) 1,71 (- 3,50)	(0,80 -) 2,08 (- 5,85)	(0,80 -) 1,52 (- 2,80)
	Buch	-	-	-
	Chrt	-	-	-
	Dos	1,5 - 2	2	-
	P-M	(0,97 -) 1,71 (- 2,83)	(1,81 -) 2,28 (- 3,38)	(1,16 -) 1,56 (- 2,06)
Délka plevin [cm]	Hol	(0,67 -) 1,19 (- 1,46)	(0,94 -) 1,32 (- 1,70)	(0,40 -) 0,53 (- 0,84)
	Jess	< 2	< 1,8	< 0,8
	Chrt	> 1	> 1	< 1
	P-M	1,5 - 2	1,5 - 2	< 0,9
	WSA	1,6 - 2	1,3 - 1,8	0,5 - 0,8
Šířka plevin [cm]	Hol	(0,15 -) 0,34 (- 1,19)	(0,24 -) 0,51 (- 0,74)	(0,17 -) 0,24 (- 0,39)
	P-M	< 0,5	< 0,7	< 0,5
	WSA	0,4 - 0,5	0,4 - 0,7	0,3 - 0,4
Velikost spor [μm]	Hol	(37,41 -) 47,45 (- 56,92)	(37,41 -) 48,19 (- 55,51)	(38,40 -) 47,65 (- 55,66)
	Buch	(36 -) 47,90 (- 58)	(40 -) 52,90 (- 62)	-
	Per	(30 -) 38,72 (- 42)	(39 -) 44,55 (- 51)	-
	P-M	(44 -) 58,86 (- 70,4)	(47,5 -) 60,38 (- 75,7)	(45,8 -) 58,97 (- 70)
	Nar	46	45 - 54	-
	WSA	48 - 56	48 - 60	44 - 56

Tabulka 8.1: Porovnání některých hodnot znaků uváděných v literatuře s vlastními výsledky. Významy jednotlivých znaků jsou patrné z obrázků č.6.3 - 6.1, popř. tab. č.6.1. Pozn.: Hol – vlastní naměřené hodnoty; Ek – Ekrt 2000; Buch – Buchtová 1998; Jess – Jessen 1997; Per – Peroni et Peroni 1996; Dos – Dostál 1989; Chrt – Chrtek 1988; P-M – Piekos-Mirkowa 1979; Nar – Nardi 1976; WSA – Widén, Sarvela et Ahti 1968.

Také další znak uváděný jako determinační pro *D. dilatata* a *D. expansa* (Ekrt 2000, Piekos-Mirkowa 1979) se projevil jako významný jen u rozlišování kříženců. Jedná se o poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce horního bazálního lístečku (PU1/PU2). U *D. × ambroseae* je tento dolní lísteček obvykle dvakrát a více delší než horní lísteček (zatímco u *D. × deweveri* je většinou kratší). Toto zcela odpovídá hodnotám, které udává Ekrt (2000) pro druh *D. expansa*.

Jako nový parametr pro odlišování *D. dilatata* a *D. expansa* je v dřívější studii tohoto komplexu (Ekrt 2000) uváděna poloha dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku vzhledem k horním dvěma lístečkům. Z výsledků diskriminační analýzy se však tento znak nejeví jako příliš významný.

Počet žlázek na větvení listu a znaky na plevinách jsou v předchozích studiích většinou uváděné jako znak velmi variabilní, i když pro odlišení *D. carthusiana* se nejvíce používá právě délka a barva plevin a nežláznatost (Crabbe, Jermy et Walker 1970, Ekrt 2000, Piekos-Mirkowa 1979 aj.). Dle výsledků morfometrických analýz byla *D. carthusiana* nejlépe odlišena od ostatních druhů na základě velikosti plevin a absence středního žebra plevin, což potvrzuje údaje v klíčích (např. Kubát et al. 2000). Délka středního žebra plevin byla v této studii měřena poprvé a byla i jedním z důležitých znaků (společně se šířkou plevin), který se projevil jako významný při odlišování *D. dilatata* a *D. expansa*.

Poněkud problematický je znak týkající se žlázek na větvení listu. Ten se ukázal jako velmi významný pro odlišení *D. carthusiana*, neboť měl tento druh mnohem méně žlázek na větvení listu než ostatní taxony. Nelze však souhlasit s tvrzeními, že je nežláznatá (Dostál 1989, Jessen 2005 aj.), neboť všechny exempláře byly řídce žláznaté, což potvrzuje údaje, které udává Viane (1986).

Pro odlišení kříženců (*D. × ambroseae*, *D. × deweveri*) od ostatních druhů se jako nejspolehlivější, ale také pouze jako jediný znak, ukázala kvalita spor. Pomocí tohoto parametru byly v diskriminačních analýzách správně klasifikovány všechny rostliny (100 %). Již dříve někteří autoři (Fraser-Jenkins et Reichstein 1984, Wagner et Chen 1965 aj.) uváděli jako nejdůležitější znak kříženců právě abortované spory. Tento znak se tedy potvrdil a nutno podotknouti, že spolehlivě slouží i pro jednoznačnou identifikaci rodičovských druhů od jejich hybridů. Podobná situace je i u komplexu *Asplenium trichomanes* agg., jehož hybridní druhy se vyznačují také abortovanými spory (Ekrt 2003).

Velikost spor, která byla již dříve zpochybňována mnoha autory (Nardi 1976, Piekos-Mirkowa 1979, Widén, Sarvela et Ahti 1967), se i v této studii (vzhledem k překryvu hodnot) ukázala jako bezvýznamná. V jiných skupinách kapradin je však tento znak považován za důležitý (Ekrt 2003, Jäger et Leonhards 1995). Například v komplexu *Asplenium trichomanes* agg. je velikost spor korelována se stupněm ploidie a výrazně se liší u jednotlivých subspecií (Ekrt 2003).

Do vlastních morfometrických analýz nebylo zařazeno několik znaků, které se obtížně kvantitativně hodnotí. Přesto zasluhují komentář, neboť na základě pozorování cytologicky ověřených druhů tyto znaky mohou přispívat k jejich správnému odlišení. Jedním z těchto znaků je barva spor, kte-

rou uvádí již někteří autoři jako důležitý znak pro determinaci *D. dilatata* a *D. expansa* (Hilmer 1996, Jessen 1997, Tyler 1996 aj.). V této studii byly tyto údaje potvrzeny, neboť všechny pozorované vzorky *D. dilatata* měly spory tmavohnědé, zatímco u *D. expansa* byly světle hnědé. Také barva čepele v terénu pomáhá (opět v souladu s literárními údaji - Piekos-Mirkowa 1979 aj.) odlišit zmiňované druhy, neboť u *D. dilatata* je čepel tmavozelená, zatímco *D. expansa* ji má světlezelenou. Dalším znakem, který je v souladu s literárními údaji (Benl et Eschelmüller 1983) a může napomoci ke správnému určení těchto taxonů je jemnější zpeření čepele u *D. expansa*. To je však nejvíce patrné při porovnávání obou druhů vedle sebe. Pro druh *D. carthusiana* jsou dle některých autorů (Kubát et al. 2002) charakteristické dolní lístky, které jsou pootočené podle vřetene, takže působí „schodovitým dojmem“.

Jak je patrné z výsledků této studie, determinace druhů (zejména *D. dilatata* × *expansa*) není jednoduchá, ale na základě správně volených znaků a správné fenologie (vyvinuté spory) je možné dospět k uspokojivému výsledku. S jistotou však nelze morfologicky determinovat každého jedince a právě v takových případech je nutné použít metodu průtokové cytometrie, která umožňuje zcela jednoznačné odlišení všech druhů.

Souhrn nejdůležitějších výsledků:

- Byl potvrzen hojný výskyt křížence *D. dilatata* × *expansa* (*D.* × *ambroseae*), který byl dosud udáván pouze z jediné lokality.
- Naproti tomu obecně uvažovaná častá hybridizace mezi *D. carthusiana* a *D. dilatata* (*D.* × *deweveri*) nebyla prokázána a někdejší hybridy je ve většině případů nutné považovat za extrémní typy rodičovských druhů.
- Nejvýznamnějším znakem pro determinaci jsou spory, na základě kterých lze odlišit nejen křížence od rodičovských druhů (podíl abortovaných spor), ale i morfologicky blízké taxony *D. dilatata* a *D. expansa* (barva spor). Pro správné určení rostlin v terénu je tedy nutné mít k dispozici plodné jedince.
- Nejčastěji používaný znak pro odlišení *D. dilatata* a *D. expansa* - poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku - se ukázal jako významný i pro odlišení kříženců (*D. dilatata* × *expansa*, *D. carthusiana* × *dilatata*). Ke spolehlivějšímu odlišení jednotlivých druhů je tedy třeba větší množství znaků.

9 Závěr

Tato práce předkládá výsledky studia komplexu *D. dilatata* s využitím metody průtokové cytometrie a morfometrické analýzy.

Celkem byl shromážděn materiál z 35-ti lokalit v České Republice a na Slovensku a analyzováno 607 rostlin.

Na základě relativního obsahu jaderné DNA (velikosti genomu), který byl zjišťován pomocí průtokové cytometrie, byla jednoznačně odlišena nejen diploidní *D. expansa*, ale i oba tetraploidní druhy - *D. dilatata* a *D. carthusiana*. Dále byli touto metodou odhaleni i dva kříženci - *D. × ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*) a *D. × deweveri* (*D. carthusiana* × *dilatata*).

Údaje o rozšíření *D. expansa* na území České republiky byly dosud známy velmi nedokonale a vzhledem k častým záměnám tohoto druhu s *D. dilatata* nebyly příliš věrohodné. Z oblasti Českého středohoří, na kterou byl tento výzkum především zaměřen, byly dosud známy pouze dvě lokality (Kamenec, Štěpánovská hora). Cytometrickou analýzou se podařilo výskyt *D. expansa* na těchto lokalitách potvrdit. Zároveň byly v této oblasti nalezeny další čtyři nové lokality (Bobří soutěska, Čertova jizba, Milešovka a Průčelská rokle).

Dále byl prokázán hojný výskyt *D. × ambroseae* ve smíšených populacích z 13-ti lokalit v České republice. Z našeho území byla dosud uváděna pouze jedna lokalita tohoto křížence z okolí Písku (Chrtek 1988).

Údaje o nejčastějším výskytu *D. × deweveri* na našem území byly zcela vyvráceny, neboť se podařilo nalézt pouze jedinou lokalitu tohoto hybridu. Lze tedy jeho výskyt považovat za vzácný.

Na základě morfometrické analýzy byly kriticky vyhodnoceny znaky užívané k determinaci jednotlivých druhů v rámci komplexu *D. dilatata*. Jako nejspolehlivější znak pro odlišení hybridů od rodičovských druhů se ukázala kvalita spor. *D. carthusiana* byla jednoznačně odlišena od ostatních druhů na základě počtu žlázek, délky plevin a absence středního žebra plevin. Pro determinaci *D. dilatata* a *D. expansa* byly nejvýznamnější tyto znaky: šířka plevin, poměr délky středního žebra plevin k délce plevin a poměr délky dolního bazálního lístečku nejspodnějšího lístku k délce nejspodnějšího lístku. Poslední jmenovaný znak je významný i pro odlišení *D. × ambroseae* a *D. × deweveri*.

10 Summary

This MSc. thesis focuses on cytotaxonomic and morphometric evaluation of the *Dryopteris dilatata* alliance, which comprises three taxa in Central Europe: diploid *D. expansa* and tetraploid *D. carthusiana* and *D. dilatata*.

Thirty-five populations (607 individuals in total) collected in the Czech Republic and Slovakia were included into the study. DAPI flow cytometry and multivariate statistics (PCA, cluster analyses, discriminant analyses) were employed to get novel and reliable insights into the phenotypic variation.

Relative genome size served as a taxon-specific marker, which allowed unbiased species/hybrid determination. Along with three parental taxa (*D. carthusiana*, *D. dilatata*, *D. expansa*), two hybrid combinations (i.e., *D. dilatata* × *expansa*, *D. carthusiana* × *dilatata*) were also revealed.

Distributional data for the neglected *D. expansa* are provided, with emphasis on the České středohoří Mts. In this area, two localities (Kamenec, Štěpánovská hora) were confirmed and four new populations were discovered (i.e. Bobří soutěska, Čertova jizba, Milešovka, and Průčelská rokle).

In contrast to previous views, a nothotaxon *D. ×deweveri* (*D. carthusiana* × *dilatata*) occurs very rarely and only one locality have been found. On the other hand, *D. ×ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*) seems to be quite frequent, and was detected at 13 localities in the present study.

Morfometric analysis allowed critical evaluation of the characters, which are used for determination of the taxa. The only reliable feature for distinguishing hybrids is the low proportion of fully developed spores (< 50%). Species-specific characters of *D. carthusiana* are (nearly) glabrous stems, and short scales lacking any dark central stripe. *D. dilatata* could be separated from *D. expansa* by the width of the scales, dark central stripe length / scale length ratio, and basiscopic pinnules length / lowest pinna length ratio. The latter character is also useful for differentiation between *D. ×ambroseae* and *D. ×deweveri*.

11 Použitá literatura

- BECK R. (1998): Erstfunde von *Dryopteris remota* (A. Br.) Druce (entferntfiedriger Wurmfarne, verkannter Dornfarne) im Baden-Württembergischen Keuperbergland. - Flor. Rundbr. 32: 1-6
- BENNETT M. D., BHANDOL P. et LEITCH I. J. (2000): Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses - 807 new estimates. - Ann. Bot. 86: 859-909.
- BENL G. et ESCHELMÜLLER A. (1970): *Dryopteris dilatata* × *assimilis* in Bayern. - Ber. Bayer. Bot. Ges. 42: 185-188.
- BENL G. et ESCHELMÜLLER A. (1973): Über „*Dryopteris remota*“ und ihr Vorkommen in Bayern. - Ber. Bayer. Bot. Ges. 44: 101-141.
- BENL G. et ESCHELMÜLLER A. (1983): Zum Vorkommen weniger bekannter *Dryopteris*-Sippen im bayerischen Alpen- und Voralpenraum. - Ber. Bayer. Bot. Ges. 54:77-102.
- BRABEC E. (1971): Příspěvek k ekologii sutí Českého středohoří. - Diplomová práce, PřF UK, Praha, 97 stran.
- BRIGGS D. et WALTERS S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. - Universita Palackého v Olomouci, 531 stran.
- BRITTON D. M. (1967): Diploid *Dryopteris dilatata* from Quebec. - Rhodora 69: 1-4
- BRITTON D. M. (1968): The spores of four species of Spinulose wood ferns (*Dryopteris*) in eastern North America. - Rhodora 70: 340-347.
- BRITTON D. M. (1972): Spore ornamentation in the *Dryopteris spinulosa* complex. - Canad. J. Bot. 50: 1617-1621
- BRITTON D. M. et SOPER J. H. (1966): The cytology and distribution of *Dryopteris* species in Ontario. - Canad. J. Bot. 44: 63-78.
- BRITTON D.M. et WIDÉN C.J. (1974): Chemotaxonomic studies on *Dryopteris* from Quebec and eastern North America. - Canad. J. Bot. 52: 627-638.
- BUCHTOVÁ A. (1998): Morfologie listu *Dryopteris dilatata* s.s. (Hoffm.) A. Gray a *D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy. - 44p. +1 append. [Diplomová práce; depon. in: knihovna Kat. bot. PřF UP Olomouc].
- BUREŠ P., TICHÝ L., WANG Y.-F. et BARTOŠ J. (2003): Occurrence of *Polypodium* × *mantoniae* and new localities for *P. interjectum* in the Czech Republic confirmed using flow cytometry. - Preslia 75: 293-310.
- BUREŠ P., YI-FENG W., HOROVÁ L. et SUDA J. (2004): Genome size variation in Central European species of *Cirsium* (*Compositae*) and their natural hybrids. - Ann. Bot. 94: 353-363.

- CERBAH M., COULAUD J., BROWN S. C. et SILJAK-YAKOVLEV S. (1999): Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris*. - *Heredity* 82: 261-266.
- CHÁN V. [ed.] (1999): Komentovaný červený seznam květeny jižní části Čech. - *Příroda* 16: 237.
- CHRTEK J. (1988): *Dryopteris* Adanson - kaprad, 262-272 - In: Hejný S., Slavík B. [eds.]: Květena ČSR 1, Academia, Praha, 557 stran.
- CHYTRÝ M., KUČERA T. et KOČÍ M. [eds.] (2001): Katalog biotopů České republiky. - Agentura ochrany přírody a krajiny, Praha, 262 stran.
- CÍLEK V. (2001): Scree slopes and boulder fields of Northern Bohemia: origin, processes and dating. In: Kubát, K., 2001. [ed.]: Sborník „Lebensraum Blockhalde“ Acta Univ. Purkyn. Ústí n. L., biologica, 4, 2000, 204 stran.
- CORLEY H. V. et GIBBY M. (1981): *Dryopteris* \times *sarvelae* in Scotland; a new hybrid for the British Isles. - *Fern Gaz.* 12: 178.
- CRABBE J. A., JERMY A. C. et WALKER S. (1970): The distribution of *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain. - *Watsonia* 8: 3-15.
- CRANE F. W. (1955): Comparative study of diploid and tetraploid spores of *Dryopteris dilatata* from Britain and Europe. - *Watsonia* 3: 163 - 169.
- CRANE F. W. (1960): A key to American *Dryopteris* species based on characters of the perispore. - *Amer. Fern J.* 50: 270-275.
- DOLEŽEL J. (1997): Application of flow cytometry for the study of plant genomes. - *J. Appl. Genet.*, 38: 285-302.
- DOLEŽEL J., LUCRETTI S. et MACAS J. (1997): Analýza a třídění chromozomů rostlin pomocí průtokové cytometrie. - *Biologické listy* 62: 131-160.
- DOLEŽEL J., SGORBATI S. et LUCRETTI S. (1992): Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. - *Physiol. Plant.* 85: 625-631
- DOMIN K. (1942): Příspěvek k poznání českých forem a míšenců rodu *Dryopteris* ze sekce *Spinulosae*. - *Věstn. Král. čes. Společ. Nauk, Praha, cl. math.-natur.* 1941 (21): 1-24.
- DÖPP W. (1939): Cytologische und genetische Untersuchungen innerhalb der Gattung *Dryopteris*. - *Planta* 29: 429 [non vidi].
- DÖPP W. (1958): Diploide *Dryopteris austriaca* in Deutschland. - *Die Naturwissenschaften* 45:4.
- DÖPP W., GÄTZI W. (1964): Der Bastard zwischen tetraploider und diploider *Dryopteris dilatata*. - *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 74: 45-53.
- DOSTÁL J. (1989): Nová květena ČSSR 1, Academia, Praha.

- DOSTÁL J., ČERVENKA M. (1984): Velký klíč k určování vyšších rostlin I., 1. vydání, SPN Bratislava: 101-105.
- EKRT L. (2000): Komplex *Dryopteris carthusiana* agg. na Šumavě a v Předšumaví. - Bakalářská práce, JU v Českých Budějovicích, 57 stran.
- EKRT L. (2003): Revize polyploidního komplexu *Asplenium trichomanes* agg. na území České republiky. - Diplomová práce, JU v Českých Budějovicích, 107 stran.
- FRASER-JENKINS C. R. (1977a): Nomenclatural notes on *Dryopteris* 2. - Fern Gaz. 11: 338-340.
- FRASER-JENKINS C. R. (1977b): *Dryopteris* × *brathaica* Fraser-Jenkins et Reichstein hybr. nov., the putative hybrid of *D. carthusiana* × *fliix-mas*. - Fern Gaz. 11:337.
- FRASER-JENKINS C. R. (1977c): Three species in the *Dryopteris villarii* aggregate (Pteridophyta, Aspidiaceae). - Candollea 32: 305-319.
- FRASER-JENKINS C. R. (1979): *Dryopteris* hybrids: A correction. - Fern Gaz. 12: 56.
- FRASER-JENKINS C. R. (1980): Nomenclatural notes on *Dryopteris* 4.- Taxon 29: 607-612.
- FRASER-JENKINS C. R. (1982): *Dryopteris* in Spain, Portugal and Macaronesia. - Bol. Soc. Brot. Sér. 2, 55: 175-336.
- FRASER-JENKINS C. R. (1986): A classification of the genus *Dryopteris* (Pteridophyta: *Dryopteridaceae*). - Bull. Brit. Mus. nat. Hist. (Bot.) 14: 183-218.
- FRASER-JENKINS C. R. (1994): *Dryopteris* Adanson, 27-30. - In: Tutin T. G. et al.: Flora Europaea Vol. 2., Cambridge Univ. Press.
- FRASER-JENKINS C. R. et REICHSTEIN T. (1984): *Dryopteris*, 136-169. - In: Hegi G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Verlag Paul Parey Berlin, Hamburg.
- FRASER-JENKINS C.R. et JERMY A.C. (1976): Nomenclatural Notes on *Dryopteris* Adans. - Taxon 25: 659-665.
- FUTÁK J. [red.] (1966): Flóra Slovenska. Vol. 1. - Vydavateľstvo SAV, Bratislava
- GIBBY M. (1977): The origin of *Dryopteris campyloptera*. - Can. J. Bot. 55: 1419-1428.
- GIBBY M. et WALKER S. (1977): Further cytogenetic studies and a reappraisal of the diploid ancestry in the *Dryopteris carthusiana* complex. - Fern Gaz. 11: 315 -324.
- GIBBY M., JERMY A. C., RASBACH H., RASBACH C., REICHSTEIN T. et VIDA G. (1977): The genus *Dryopteris* in the Canary Islands and Azores and the description of two new tetraploid species. - Bot. J. Of the Lin. Soc. 74: 251-277.
- GÖTZI W. (1966): Zur Kenntnis von *Dryopteris assimilis* S. Walker. - Ber. Schweiz. Bot. Ges., Bern 76: 146-156.

- HENDRYCH R. (1977): Systém a evoluce vyšších rostlin (učební přehled). - SPN, Praha, 500 stran.
- HESS H. E., LANDOLDT E. et HIRZEL R. (1967): Flora der Schweiz 1. Basel und Stuttgart, Birkhäuser Verl., 858 stran.
- HILMER O. (1996): *Dryopteris expansa* (C. B. Presl) Fraser-Jenkins et Jermy, Feingliedriger Wurmfarne - Verbreitung, Bestimmungsmerkmale und Vorkommen im Harz. - Flor. Rundbr., 30: 132-141.
- HÖRANDL E. (1994): *Dryopteridaceae* Ching, 251-254. - In: Adler W. et al, Exkursionsflora von Österreich, Stuttgart.
- HORN K., DIEWALD W. et HOFMANN R. (1999): Neufunde bemerkenswerter Farnpflanzen (*Pteridophyta*) im Nationalpark Bayerischer Wald und angrenzenden Gebieten. - Denkschr. Regensb. Bot. Ges., 60: 371-391.
- HOVENKAMP P. H., VIANE R. L. L. et BREMER P. (1990): *Dryopteris expansa* (Presl) Fraser-Jenkins et Jermy (Lichtgroene stekelvaren) ook in Nederland. - Gorteria 16: 107-112.
- HULTÉN E. et FRIES M. (1986): Atlas of Northeuropean Vascular Plants: North of the Tropic of Cancer. - Vol. 1. Königstein.
- JÄGER W. et LEONHARDS W. (1995): Über ein neues Vorkommen von *Dryopteris* × *complexa* Fraser-Jenkins nssp. *critica* Fraser-Jenkins in Nordrhein-Westfalen sowie merkmalsvergleiche mit anderen Sippen. - Flor. Rundbr. 29: 50-64.
- JALAS J. et SUOMINEN J. (1972): Atlas Florae Europaeae I. (Distribution of Vascular Plants in Europe). - Pteridophyta I., Helsinki, 104-107.
- JESSEN S. (1983): *Dryopteris expansa* (Presl) Fraser-Jenkins et Jermy im Erzgebirge, Thüringer Wald und Harz. - Gleditschia, Berlin, 10: 173-179.
- JESSEN S. (1984): Beitrag zur Kenntnis der einheimischen Pteridophytenflora. - Mitt. Flor. Kart. Halle, 10: 76-92.
- JESSEN S. (1997): *Dryopteris expansa* - eine neue Farnart für das Land Brandenburg. - Verh. Bot. Ver. Berlin Brandenburg. 130: 203-207.
- JESSEN S. (2005): *Dryopteridaceae* Ching, 112-135. - In: Rothmaler V. et al, Exkursionsflora von Deutschland, Band 4 (Kritischer Band), 10. Ausgabe.
- JESSEN S. et RASBACH H. (1987): *Dryopteris* × *sarvelae*, erster Nachweis für Mitteleuropa - Abstammung, verwandte Arten und Hybriden - (Pteridophyta). - Gleditschia, 15: 57-72.
- JIRÁSEK J. (1996): Společenstva přirozených smrčů České republiky, Preslia 67: 225-259.

- KRAMER K. U., HOLTTUM R. E., MORAN R. C. et SMITH A. R. (1990):
Dryopteridaceae, 101-144. - In: The families and genera of vascular plants I, Pteridophytes and Gymnosperms, Kramer K. U. et Green P. S., Springer-Verlag, Berlin.
- KREMER B. P. et MUHLE H. (1998): Lišejníky, mechorosty, kapradňorosty. - Czech edition, Ikar, Praha.
- KUBÁT K. (1971): Ledové jámy a exhalace v Českém středohoří II. - Vlastiv. Sborn. Litoměřicko, Litoměřice, 8: 67-89.
- KUBÁT K. (1973): Rozšíření některých podhorských druhů rostlin v Českém středohoří. - Vlastiv. Sbor. Litoměřicko 10: 107-117.
- KUBÁT K. (1974): Proudění vzduchu sutěmi jako ekologický faktor. - Opera Corcont..11: 53-62.
- KUBÁT K., HROUDA L., CHRTEK J. Jun., KAPLAN Z., KIRSCHNER J. et ŠTĚPÁNEK J. [eds.] (2002): Klíč ke květeně České republiky. - Academia, Praha, 928 stran.
- LEITCH I. J. et BENNETT M. D. (1997): Polyploidy in angiosperms. - Trends Plant Sci., 2: 470-476.
- LEONHARDS W., RASBACH H., JÄGER W. et BENNERT H. W. (1990):
Vorkommen und Cytologie von *Dryopteris* × *deweeveri*
(= *Dryopteris carthusiana* × *dilatata*, *Dryopteridaceae*, *Pteridophyta*) in
Nordrhein-Westfalen. - Tuexenina 10: 17-24.
- MAHELKA V., SUDA J., JAROLÍMOVÁ V., TRÁVNÍČEK P. et KRAHULEC F. (2005): Genome size discriminates between closely related taxa *Elytrigia repens* and *E. intermedia* (*Poaceae: Triticeae*) and their hybrid. - Folia Geobot. 40: 367-384.
- MANTON I. (1950): Problems of Cytology and Evolution of the Pteridophyta, Cambridge, 309 stran.
- MANTON I. et WALKER S. (1953): Cytology of the *Dryopteris spinulosa* Complex in Eastern North America. - Nature 171: 1116-1117.
- MANTON I. et WALKER S. (1954): Induced Apogamy in *Dryopteris dilatata* (Hoffm). A. Gray and *D. filix-mas* (L.) Schott emend. and its Significance for the Interpretation of the Two species. - Ann. Bot. N. S. Vol. XVIII, No. 71, 377-385.
- MAREŠ J. (1959): Ledové jeskyně a drobné suťové ledové sluje v Českém středohoří. - Ochr. Přír. 14: 93-97.
- MARHOLD K. et SUDA J. (2002): Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii (fenetické metody). - Karolinum, Praha, 159 stran.
- MELZER H. (1969): Neues zur Flora von Kärnten. - Carinthia II, 27: 181-190.

- MORAVEC J. et al. (1995): Rostlinná společenstva České republiky a jejich ohrožení, 2.ed. - Severočeskou přírodou, Litoměřice, Append., 1-206.
- MURRAY B. G. (2005): When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant?. - *Ann. Bot.* 95: 119-125
- NANFELDT J. A. (1966): *Dryopteris dilatata* och *D. assimilis* I Sverige. - *Bot. Notiser* 119: 136-152.
- NARDI E. (1976): *Dryopteris assimilis* S. Walker in Italia. - *Webbia* 30: 457-478.
- NEUHÄUSLOVÁ Z. et al. (1998): Mapa potenciální přirozené vegetace České republiky - textová část. - Academia, Praha.
- NOVÁK F.A. (1972): Vyšší rostliny 1 (*Tracheophyta*), Academia, Praha, 941 stran.
- OTTO F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. - In: Crissman H. A. et Darzynkiewicz Z. [eds.]: *Methods in cell biology*. Acad. Press, New York, 33: 105-110.
- PAGE P.N. (1997): *The ferns of Britain and Ireland*, second edition. - Cambridge University Press, 540 stran.
- PAZOUREK J. (1966): Anatomical gradients. - *Acta Univ. Carolinae, Praha, Biol., Suppl.* 19-25.
- PAZOURKOVÁ Z. (1986): *Botanická mikrotechnika*, UK, Praha: 141-164.
- PERONI A. et PERONI G. (1996): *Dryopteris × ambroseae* Fras.-Jenk. et Jermy (*Dryopteridaceae*: Pteridophyta) New for Italy. - *Bol. Soc. Brot.* 67: 309-319.
- PIEKOS - MIRKOWA H. (1979): Paprocie z grupy *Dryopteris dilatata* w Polsce. - *Monogr. Bot., Warszawa* 59: 1-75.
- PIEKOS H. (1974): Mieszaniec *Dryopteris assimilis × dilatata* w Polsce. - The Hybrid *Dryopteris assimilis × dilatata* in Poland. - *Fragm. Flor. et Geobot.* 20: 333-338.
- PIEKOS H. (1975): Perispore Sculpture of *Dryopteris cristata* and Those in the *D. dilatata* Complex in Poland. - *Bull. Acad. Pol. Sci. Cl. V.* 23: 755-759.
- PIEKOS H. et PASSAKAS T. (1973): The Chromosome Number in *Dryopteris assimilis* S. Walker from the West Bieszczady Range (East Carpathian Mts.) - Liczba chromosomów u *Dryopteris assimilis* S. Walker z Bieszczadów Zachodnich. - *Fragm. Flor. et Geobot.* 19: 305-308.
- PIEKOS-MIRKOWA H. (1977): Notes on the taxonomy and distribution of species of the *Dryopteris dilatata* complex in the Caucasus, Siberia and the Far East. - *Acta Soc. Bot. Poloniae* 46: 577-585
- PIEKOS-MIRKOWA H. (1987): The *Dryopteris dilatata* complex in the Soviet Far East. - *Bot. Helv.* 97: 167-177.

- PIEKOS-MIRKOWA H. (1988): The *Dryopteris* genus in Poland and Slovakia. - In: Marhold K. (ed.), Carpathian Flora. Vyd. UEBE SAV, Bratislava, 95-98.
- PIEKOS-MIRKOWA H. (1991): The distribution of the *Dryopteris dilatata* complex in Poland and in Slovakia. - Veröff. Geobot. Inst. ETH. 106: 282-287.
- PIEKOS-MIRKOWA H. (1993): Morphological differentiation and distribution of *Dryopteris* species in Europe and the former Soviet Union. - Wiadom. Bot. 37: 7-10.
- PIEKOS-MIRKOWA H. (1993): Altitudinal distribution pattern of *Dryopteris dilatata* and *D. expansa* (*Dryopteridaceae*) in the Alps, the Carpathians and the Caucasus. - Fragm. Flor. Geobot. Suppl. 2: 307-312
- PROCHÁZKA F. [ed.] (2001): Černý a červený seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v roce 2000). - Příroda 18: 1-166.
- PROCHÁZKA F. et ŠTECH M. (2002): Komentovaný černý a červený seznam cévnatých rostlin České Šumavy, Správa NP a CHKO Šumava, 1. vydání, Vimperk, 140 stran.
- REICHSTEIN T. (1997): *Dryopteris* ADANSON. - In: Pignatti S., Flora D' Italia. Edagricole, Bologna, 64-67.
- SCHIDLAY E. (1966): *Dryopteris*, 202-220. In: Futák J. (ed.), Flóra Slovenska 2. Vyd. SAV, Bratislava, 349 stran.
- SCHNELLER J., HOLDEREGGER R., GUGERLI F., EICHENBERGER K. et LUTZ E. (1998): Patterns of genetic variation detected by RAPDs suggest a single origin with subsequent mutations and long-distance dispersal in the apomictic fern *Dryopteris remota* (*Dryopteridaceae*). - Amer. J. Bot. 85: 1038-1042.
- SIMON T. et VIDA G. (1966): Neue Angaben zur Verbreitung der *Dryopteris assimilis* S.Walker in Europa. - Ann. Univ. Sci. 8: 275-284.
- ŠIMR J. (1956): Státní přírodní rezervace „Štěpánovská hora“. - Ochr. Přír. 11: 146-149.
- SILJAK-YAKOVLEV S., PECCENINI S., MURATOVIC E., ZOLDOS V., ROBIN O. et VALLES J. (2003): Chromosomal differentiation and genome size in three European mountain *Lilium* species. - Plant Syst. Evol. 236: 165-173
- SLAVÍK B. (1986): Fytokartografické syntézy ČSR 1., Botanický ústav ČSAV, Průhonice, 50-52.
- SOLTIS D. E. et SOLTIS P. S. (1987): Breeding system of the fern *Dryopteris expansa*: evidence for mixed, mating. - Amer. J. Bot. 74: 504-509.
- SORSA P. (1964): Studies on the spore morphology of Fennoscandian fern species. - Ann. Bot. Fenn. 1:179-201.
- SORSA V. et WIDÉN C. J. (1968): The *Dryopteris spinulosa* complex in Finland, a cytological and chromatographic study of some hybrids. - Hereditas 60: 273-293.

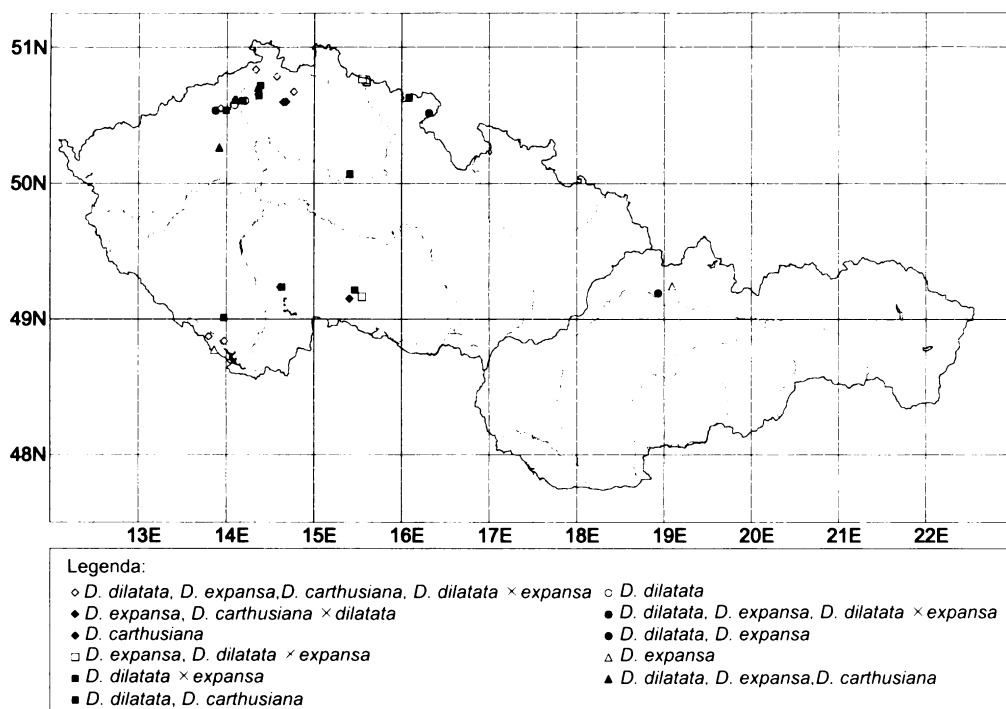
- STACE C.A. (1975): Hybridization and the Flora of the British Isles. - Academic Press, 113-118.
- STACE C.A. (1997): New Flora of the British Isles. - Cambridge University Press, 1165 stran.
- SUDA J. (2005): Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. - Živa 53: 46-48.
- TRYON R. et BRITTON M. (1966): A study of variation in the cytotypes of *Dryopteris spinulosa*. - Rhodora 68: 59-92.
- TYLER T. (1996): Nordbräken och lundbräken - hur känner man igen dem? - Svensk. Bot. Tidskr. 90: 107-111.
- VIANE R.L.L. (1986): Taxonomical Significance of the Leaf Indument in *Dryopteris* (Pteridophyta): I. Some North American, Macaronesian and European Taxa. - Pl. Syst. Evol. 153: 77-105.
- VIDA G. (1972): Cytotaxonomy and genome analysis of the European ferns. - Symp. Biol. Hung. 12: 51-60.
- VOGEL J. C., RUMSEY F. J., SCHNELLER J. J., BARRETT J. A. et GIBBY M. (1999): Where are the glacial refugia in Europe? Evidence from pteridophytes. - Biol. Journ. Linn. Soc. 66: 23-27
- WAGNER W. H. (JR.) et CHEN L. K. (1965): Abortion of Spores and Sporangia as a Tool in the Detection of *Dryopteris* Hybrids. - Amer. Fern J. 55: 9-29.
- WALKER S. (1955): Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex I. - Watsonia 3: 193-209.
- WALKER S. (1959): Cytotaxonomic studies of some American species of *Dryopteris*. - Amer. Fern J. 49: 104-112.
- WALKER S. (1961): Cytogenetic studies in the *Dryopteris spinulosa* complex II. - Amer. J. Bot. 48: 607-614.
- WALKER S. et JERMY A. C. (1964): *Dryopteris assimilis* S. Walker in Britain. - Brit. Fern. Gaz. 9: 137-140
- WERTH C.R. (1991): Isozyme Studies on the *Dryopteris „spinulosa”* Complex, I: The Origin of the Log Fern *Dryopteris celsa*. - Systematic Botany, 16: 446-461.
- WHERRY E. T. (1960): Progress in the study of *Dryopteris* hybrids. - Amer. Fern J. 50: 87-92.
- WIDÉN C. J. et SORSA V. (1968): On the intraspecific variability of *Dryopteris assimilis* S. Walker and *Dryopteris spinulosa* Watt, a chromatographic and cytological study. - Hereditas 62: 1-13.
- WIDÉN C. J. von EUW J. et REICHSTEIN T. (1970): Trispara-aspidin, ein neues Phloroglucid aus dem Farn *Dryopteris remota* (A. BR.) HAYEK. - Helv. Chim. Acta 53: 2176-2188.



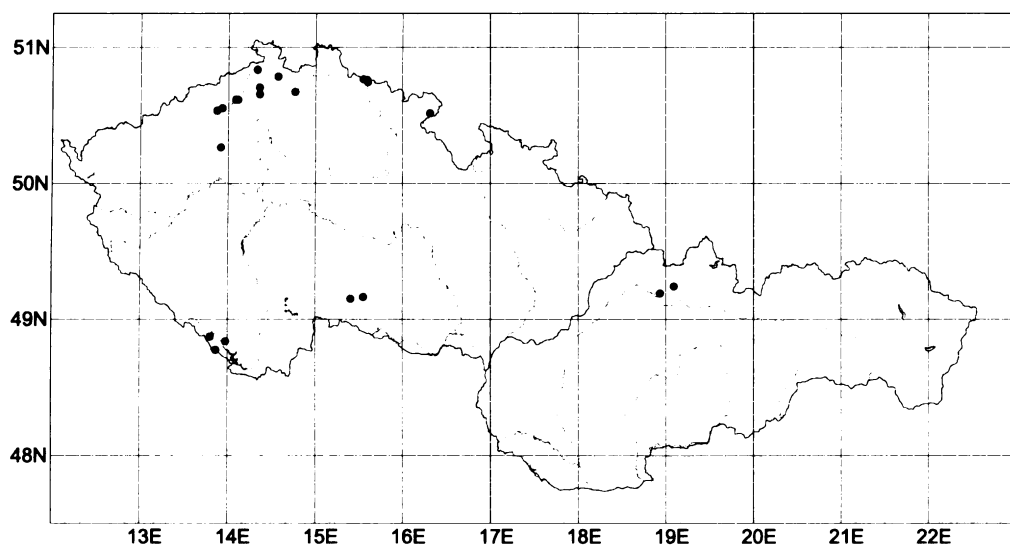
- WIDÉN C. J., BRITTON D. M. (1985): Phloroglucinol derivates of *Dryopteris tokyoensis* and the missing genome in *D. cristata* and *D. carthusiana* (*Dryopteridaceae*). - *Ann. Bot. Fennici* 22: 213-218.
- WIDÉN C. J., SARVELA J. et AHTI T. (1967): The *Dryopteris spinulosa* complex in Finland. - *Acta Bot. Fenn.* 77: 1-25.
- WIDÉN C. J., SORSA V. et SARVELA J. (1970): *Dryopteris dilatata* s. lat. in Europe and the Island of Madeira, a Chromatographic and cytological study. - *Act. Bot. Fenn.* 91: 1-30, Helsinki.
- WIDÉN C.J. et BRITTON D.M. (1969): A chromatographic and cytological study of *Dryopteris dilatata* in eastern North America. - *Can. J. Bot.* 47: 1337-1344.
- WIDÉN C.J. et BRITTON D.M. (1970): A chromatographic and cytological study of *Dryopteris dilatata* in eastern North America and eastern Asia. - *Can. J. Bot.* 49: 247-258.
- WIDÉN C.J., FRASER-JENKINS Ch. R., REICHSTEIN T. et SARVELA J. (1999): A survey of phenolic compounds in *Dryopteris* and related fern genera. Part II. Phloroglucinol derivates in subgenus *Dryopteris* (*Pteridophyta, Dryopteridaceae*). - *Acta Bot. Fennica* 164:1-56.
- WIDÉN C.J., SARVELA J. et BRITTON D.M. (1983): On the location and distribution of phloroglucinols (filicin) in ferns. - *Ann. Bot. Fenn* 20: 407-417.
- ZONNEVELD B. J. M. (2001): Nuclear DNA contents of all species of *Helleborus* (*Ranunculaceae*) discriminate between species and sectional divisions. - *Plant Syst. Evol.* 229: 125-130.

Diplomová práce byla nasázena pomocí programu L^AT_EX 2_ε

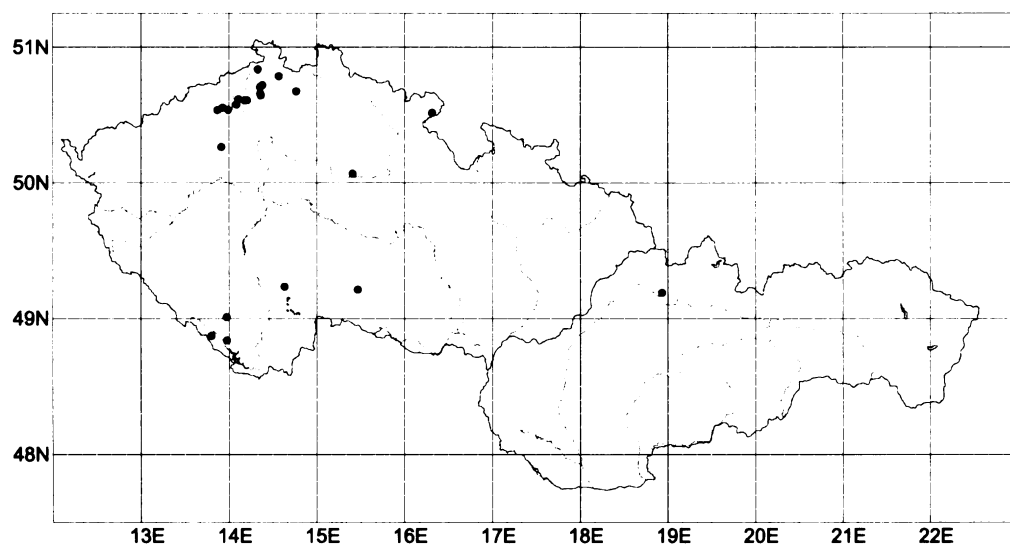
A Mapy lokalit studovaných druhů na území ČR



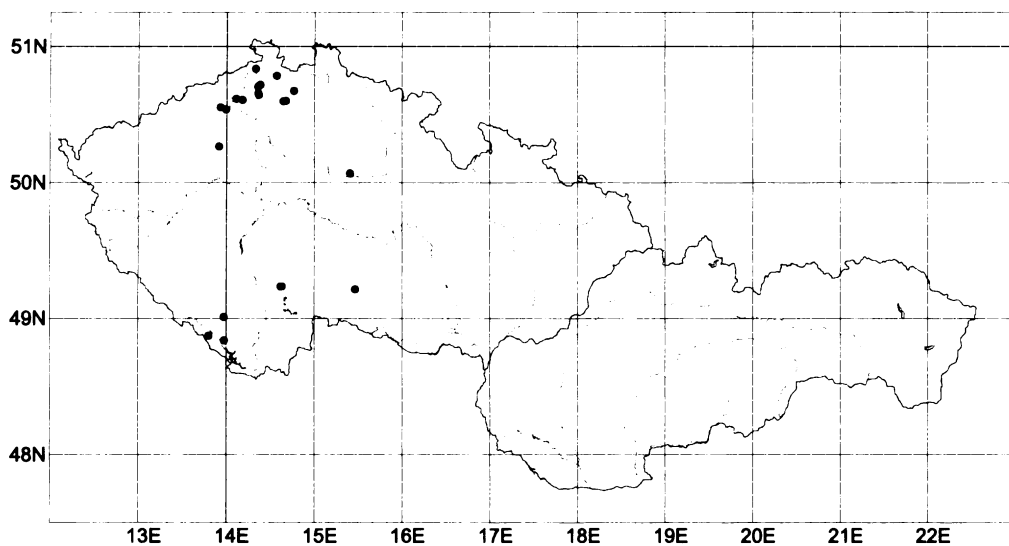
Obrázek A.1: Souhrnná mapa studovaných lokalit okruhu *D. dilatata* na území České republiky a Slovenska.



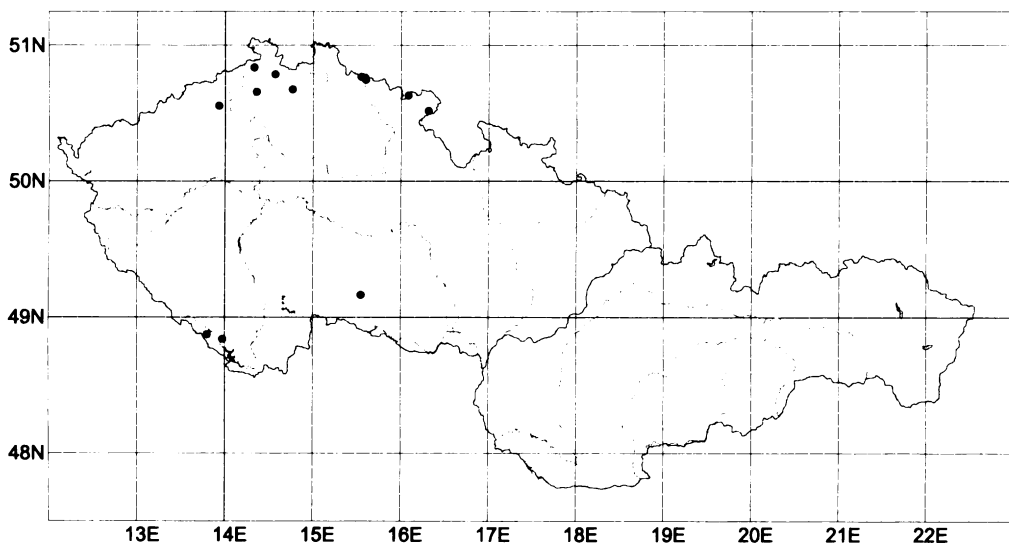
Obrázek A.2: Rozšíření cytometricky ověřených populací *D. expansa* na území České republiky a Slovenska.



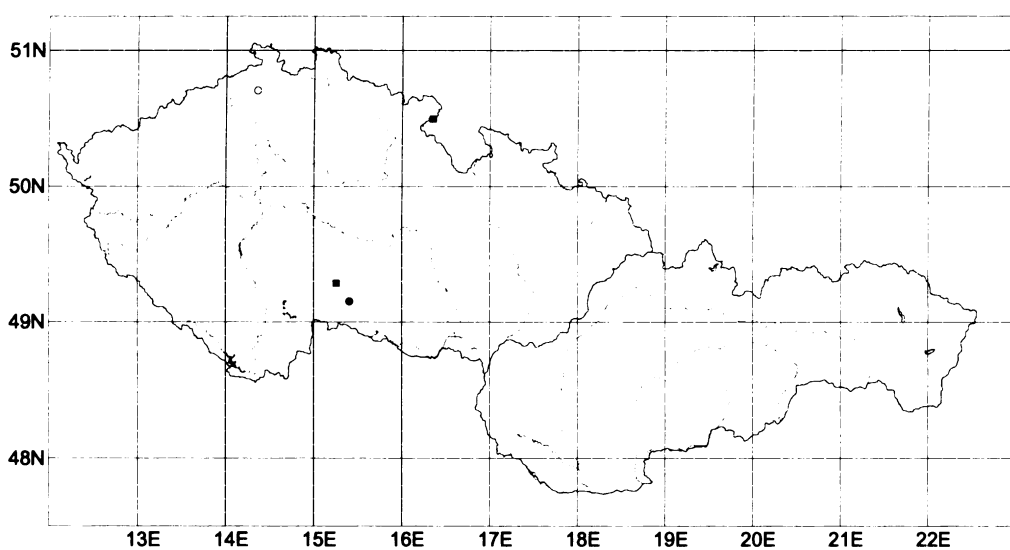
Obrázek A.3: Rozšíření cytometricky ověřených populací *D. dilatata* na území České republiky a Slovenska.



Obrázek A.4: Rozšíření cytometricky ověřených populací *D. carthusiana* na území České republiky.



Obrázek A.5: Rozšíření cytometricky ověřených populací *D. x ambroseae* (*D. dilatata* × *expansa*) na území České republiky.



Legenda:

- Nepotvrzený výskyt (Tento hybrid byl poprvé nalezen Doc. Kubátem na Kamenci v Českém Středohoří a ověřen průtokovou cytometrií. Při dalším průzkumu zmíněné lokality v rámci této diplomové práce byly všechny pokusy o jeho nalezení neúspěšné, i přesto, že se zde vyskytují oba rodičovské druhy.)
- Doložený výskyt (Cytometricky ověřené a zaherbařované vzorky.)
- Nové lokality z roku 2006 (leg. L. Ekrť, cytometricky ověřeno)

Obrázek A.6: Rozšíření cytometricky ověřených populací *D. x deweveri* (*D. carthusiana* × *dilatata*) na území České republiky.

B Seznam lokalit

Na následujících stranách je uveden kompletní seznam všech lokalit, na nichž byly učiněny nálezy vzorků přínosných pro tuto diplomovou práci.

Číslo	Lokalita	Fytogeografický okres	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Nadm. výška	n	Druhy, hybridy (počet jedinců)	Datum	Leg.
1	České Středohoří, Štěpánovská hora	Milešovské středohoří (44)	50°32'18.8"	13°52'18.7"	550	12	<i>D. dilatata</i> (3), <i>D. expansa</i> (9)	14.08.2004	K. Kubát, R. Holubová
2	České Středohoří, Kalich	Loveckovické středohoří (45a)	50°36'30.2"	14°12'27.4"	435	3	<i>D. dilatata</i> (3)	15.08.2004	R. Holubová
3	České Středohoří, Panna	Loveckovické středohoří (45a)	50°36'31"	14°10'49.5"	473	9	<i>D. dilatata</i> (8), <i>D. carthusiana</i> (1)	15.08.2004	R. Holubová
4	České Středohoří, Čertova jizba	Loveckovické středohoří (45a)	50°36'59.4"	14°05'08.1"	305	9	<i>D. expansa</i> (9)	16.08.2004	R. Holubová
5	České Středohoří, Tlučenské údolí	Labské středohoří (4b)	50°34'42.7"	14°05'13.8"	310	4	<i>D. dilatata</i> (4)	17.08.2004	R. Holubová
6	České Středohoří, Milešovka	Milešovské středohoří (44)	50°33'21.3"	13°55'45.5"	769	43	<i>D. dilatata</i> (30), <i>D. expansa</i> (2), <i>D. carthusiana</i> (7), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (4)	26.8.2004, 11.6.2005	R. Holubová
7	České Středohoří, Bobří soutěska	Loveckovické středohoří (45a)	50°39'26.3"	14°21'29.3"	435	54	<i>D. dilatata</i> (19), <i>D. expansa</i> (13), <i>D. carthusiana</i> (14), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (8)	4.9.2004, 26.6.2005	R. Holubová
8	Lužické hory, Klíč	Lužické hory (50)	50°47'18.4"	14°34'14.4"	554	24	<i>D. dilatata</i> (5), <i>D. expansa</i> (13), <i>D. carthusiana</i> (3), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (3)	05.09.2004	R. Holubová
9	České Středohoří, Kamenec	Loveckovické středohoří (45a)	50°42'25.1"	14°21'20.4"	316	81	<i>D. dilatata</i> (19), <i>D. expansa</i> (13), <i>D. carthusiana</i> (49)	04.10.2004, 06.09.2004	R. Holubová
10	České Středohoří, Binov	Loveckovické středohoří (45a)	50°38'44.6"	14°21'52.5"	503	11	<i>D. dilatata</i> (10), <i>D. carthusiana</i> (1)	07.09.2004	R. Holubová
11	Českolipsko, Ralsko u Mimoně	Ralsko-bezděžská tabule (52)	50°40'31.7"	14°45'54.8"	598	36	<i>D. dilatata</i> (18), <i>D. expansa</i> (8), <i>D. carthusiana</i> (3), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (7)	18.09.2004	R. Holubová

Tabulka B.1: Seznam lokalit – 1. část. Zaměření lokalit je uvedeno v systému souřadnic WGS-84.

Číslo	Lokalita	Fytogeografický okres	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Nadm. výška	n	Druhy, hybridy (počet jedinců)	Datum	Leg.
12	Labské pískovce, Růžovský vrch u Děčina	Růžovská tabule (46c)	50° 50' 17.7"	14° 19' 50.2"	468	57	<i>D. dilatata</i> (11), <i>D. expansa</i> (22), <i>D. carthusiana</i> (19), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (5)	19.09.2004	R. Holubová
13	České Středohoří, Průčelská rokle	Loveckovické středohoří (45a)	50° 37' 03.8"	14° 06' 28.5"	451	21	<i>D. dilatata</i> (16), <i>D. expansa</i> (1), <i>D. carthusiana</i> (4)	20.09.2004	R. Holubová
14	České Středohoří, Starý Sachov	Loveckovické středohoří (45a)	50° 43' 12.7"	14° 22' 53.7"	230	7	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. carthusiana</i> (6)	21.09.2004	R. Holubová
15	Tábořsko, Borkovická Blata	Třeboňská pánev (39)	49° 14' 13"	14° 37' 56.2"	430	28	<i>D. dilatata</i> (2), <i>D. carthusiana</i> (26)	27.09.2004	R. Holubová
16	Tábořsko, Mažická Blata	Třeboňská pánev (39)	49° 14' 14"	14° 37' 0.8"	426	23	<i>D. carthusiana</i> (23)	28.09.2004	R. Holubová
17	Dokesko, Staré Splavy	Ralsko-bezděžská tabule (52)	50° 35' 57.3"	14° 38' 46.1"	258	1	<i>D. carthusiana</i> (1)	03.10.2004	R. Holubová
18	Dokesko, Polomené Hory	Polomené hory (51)	50° 36' 11.3"	14° 40' 35"	367	1	<i>D. carthusiana</i> (1)	03.10.2004	R. Holubová
19	Krakovany u Poděbrad	Pardubické Polabí (15c)	50° 04' 14.3"	15° 24' 32.2"	222	20	<i>D. dilatata</i> (6), <i>D. carthusiana</i> (14)	10.10.2004	R. Holubová
20	České Středohoří, Opatenské údolí	Labské středohoří (4b)	50° 32' 19.79"	13° 59' 22.75"	277	26	<i>D. dilatata</i> (5), <i>D. carthusiana</i> (21)	12.06.2005	R. Holubová
21	Lounsko, Bílchov	Džbán (6)	50° 15' 59.3"	13° 54' 50.7"	394	48	<i>D. dilatata</i> (30), <i>D. expansa</i> (3), <i>D. carthusiana</i> (15)	25.06.2005	R. Holubová
22	Krkonoše, Medvědí potok	Krkonoše lesní (93a)	50° 44' 44.93"	15° 36' 1.66"	254	13	<i>D. expansa</i> (12), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (1)	08.07.2005	R. Holubová
23	Krkonoše, Medvědí bouďy	Krkonoše lesní (93a)	50° 45' 44.36"	15° 35' 33.1"	1023	29	<i>D. expansa</i> (27), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (2)	09.07.2005	R. Holubová
24	Krkonoše, Labský důl	Krkonoše lesní (93a)	50° 46' 09.43"	15° 32' 59.8"	1200	23	<i>D. expansa</i> (21), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (2)	10.07.2005	R. Holubová
25	Broumovsko, Broumovské stěny	Broumovské stěny (58g)	50° 31' 09"	16° 18' 45"	721	3	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. expansa</i> (1), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (1)	10.10.2004	L. Ekrt

Tabulka B.1.: Seznam lokalit – 2. část. Zaměření lokalit je uvedeno v systému souřadnic WGS-84.

Číslo	Lokalita	Fytogeografický okres	Zeměpisná šířka	Zeměpisná délka	Nadm. výška	n	Druhy, hybrid (počet jedinců)	Datum	Leg.
26	Broumovsko, Horní Adršpach	Policná kotlin (58b)	50°38'0"	16°05'0"	620	2	<i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (2)	19.10.2004	L. Ekrt
27	Vysočina, Olšany u Telče	Českomoravská vrchovina (67)	49°10'0"	15°33'0"	572	2	<i>D. expansa</i> (1), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (1)	28.07.2003	L. Ekrt
28	Vysočina, Mysliboř	Českomoravská vrchovina (67)	49°13'0"	15°28'0"	550	2	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. carthusiana</i> (1)	30.10.2004	L. Ekrt
29	Vysočina, Kostelní Myslová	Českomoravská vrchovina (67)	49°09'09"	15°24'25"	520	3	<i>D. expansa</i> (1), <i>D. carthusiana</i> × <i>dilatata</i> (2)	08.08.2005	L. Ekrt
30	Šumava, České Žleby	Boubínsko-stožecká hornatina (88d)	48°52'30"	13°48'01"	870	13	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. expansa</i> (2), <i>D. carthusiana</i> (6), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (4)	19.10.2004	L. Ekrt
31	Šumava, Pekná	Želnavská hornatina (88f)	48°50'26"	13°58'38"	920	5	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. expansa</i> (2), <i>D. carthusiana</i> (1), <i>D. dilatata</i> × <i>expansa</i> (1)	19.10.2004	L. Ekrt
32	Jihočeský kraj Prachatice, Kahov	Prachatické Předšumaví (37h)	49°00'49"	13°58'22"	755	4	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. carthusiana</i> (3)	19.10.2004	L. Ekrt
33	Šumava, kar Plešného jezera	Trojmezská hornatina (88e)	48°46'38.2"	13°51'51.5"	1120	2	<i>D. expansa</i> (2)	07.08.2003	L. Ekrt
34	Malá Fatra	Křivánska	49°11'34"	18°56'01"	605	2	<i>D. dilatata</i> (1), <i>D. expansa</i> (1)	30.09.2004	L. Ekrt
35	Žilina, Krasňany Malá Fatra Žilina, Terchová	Malá Fatra (21b) Křivánska Malá Fatra (21b)	49°14'39"	19°05'24"	945	1	<i>D. expansa</i> (1)	30.09.2004	L. Ekrt

Tabulka B.1: Seznam lokalit – 3. část. Zaměření lokalit je uvedeno v systému souřadnic WGS-84.

C Výsledky statistických analýz

Znak	Průměr	Medián	Směr. odchylka	Max	Kvantil 75%	Kvantil 25%	Min
v4	38,94	38,10	8,80	71,10	43,70	33,20	17,60
v5	22,45	22,00	5,67	38,50	26,40	18,30	9,50
v6	1,79	1,73	0,45	4,63	2,02	1,48	0,92
v7	14,30	14,00	2,95	22,00	16,40	12,10	7,10
v8	0,37	0,37	0,05	0,51	0,40	0,34	0,27
v9	26,15	25,50	5,44	41,80	29,90	22,50	14,10
v10	1,50	1,49	0,19	2,03	1,63	1,36	0,99
v11	30,82	30,90	8,14	65,40	35,50	24,60	14,00
v12	8,36	7,40	5,26	32,10	12,00	4,90	0,00
v13	12,55	12,20	2,85	20,80	14,50	10,50	7,00
v14	4,78	4,50	1,58	9,20	5,60	3,60	2,10
v15	2,74	2,60	0,74	6,00	3,10	2,20	1,60
v16	0,38	0,38	0,09	0,70	0,43	0,32	0,16
v17	1,75	1,74	0,37	3,56	2,00	1,50	0,92
v18	0,48	0,40	0,27	1,50	0,60	0,30	0,05
v19	0,68	0,60	0,29	1,90	0,90	0,50	0,10
v20	2,20	2,17	0,63	4,25	2,50	1,75	0,60
v21	1,93	1,82	0,69	7,33	2,20	1,56	0,75
v22	0,42	0,40	0,20	0,92	0,50	0,27	0,06
v23	1,19	1,19	0,10	1,46	1,24	1,12	0,67
v24	0,34	0,33	0,11	1,19	0,37	0,28	0,15
v25	1,13	1,13	0,13	1,46	1,22	1,07	0,67
v26	3,75	3,61	0,96	9,27	4,17	3,19	1,00
v27	0,95	0,98	0,07	1,00	1,00	0,91	0,66
v28	3830,65	3878,00	1294,00	6463,00	5041,00	2715,00	129,00
v29	47,45	46,92	2,45	56,92	48,45	46,31	37,41
v30	95,06	95,00	4,56	100,00	97,65	93,12	89,23
v31	0,90	0,80	0,35	2,00	1,10	0,70	0,30
v32	0,42	0,40	0,14	1,00	0,50	0,30	0,20
v33	0,07	0,07	0,02	0,18	0,08	0,06	0,03
v34	0,03	0,03	0,01	0,11	0,04	0,03	0,02
v35	0,13	0,12	0,02	0,28	0,14	0,11	0,07
v36	61,39	61,70	12,88	94,90	69,70	52,10	30,80
v37	0,88	0,89	0,09	1,01	0,94	0,82	0,54
v38	1,58	1,50	0,38	3,20	1,80	1,30	1,00
v39	0,33	0,33	0,06	0,50	0,37	0,29	0,16
v40	0,22	0,22	0,03	0,38	0,24	0,20	0,11
v41	0,12	0,12	0,04	0,25	0,14	0,10	0,04
v42	0,07	0,07	0,02	0,14	0,08	0,06	0,04

Tabulka C.1: Základní statistiky *Dryopteris dilatata* (191 vzorků).

Znak	Průměr	Medián	Směr. odchylka	Max	Kvantil 75%	Kvantil 25%	Min
v4	40,77	39,60	10,57	72,10	47,80	33,20	17,20
v5	26,70	26,80	7,76	47,60	32,10	21,00	8,50
v6	1,58	1,51	0,35	3,48	1,73	1,34	1,03
v7	14,92	14,70	2,80	22,10	16,80	12,90	7,50
v8	0,38	0,38	0,05	0,52	0,41	0,33	0,27
v9	26,47	25,50	5,27	40,70	29,30	22,50	14,30
v10	1,54	1,50	0,28	2,26	1,72	1,33	1,04
v11	35,95	35,80	11,93	73,40	44,30	26,50	11,60
v12	9,25	8,30	5,93	31,00	12,70	5,20	0,00
v13	13,22	13,10	2,59	20,50	15,00	11,00	7,50
v14	6,48	6,30	1,48	10,60	7,30	5,60	2,40
v15	2,96	2,90	0,58	4,40	3,40	2,50	1,80
v16	0,49	0,50	0,07	0,65	0,53	0,46	0,23
v17	2,20	2,21	0,33	3,10	2,44	1,97	1,26
v18	0,72	0,70	0,29	1,70	0,90	0,50	0,10
v19	0,68	0,70	0,27	1,60	0,90	0,50	0,00
v20	2,52	2,50	0,70	6,67	2,75	2,00	1,33
v21	1,64	1,60	0,39	3,67	1,82	1,40	0,85
v22	0,51	0,50	0,17	1,00	0,63	0,39	0,11
v23	1,32	1,32	0,13	1,70	1,42	1,23	0,94
v24	0,51	0,51	0,07	0,74	0,55	0,46	0,24
v25	1,02	1,04	0,20	1,52	1,16	0,90	0,42
v26	2,63	2,60	0,38	4,65	2,82	2,37	1,90
v27	0,77	0,78	0,13	1,00	0,88	0,69	0,39
v28	3130,72	2876,00	1519,00	8973,00	3681,00	2071,00	920,00
v29	48,19	48,13	2,48	55,51	49,22	47,84	37,41
v30	94,98	94,94	3,73	99,13	98,76	91,13	87,84
v31	1,22	1,20	0,37	2,40	1,40	1,00	0,30
v32	0,50	0,50	0,15	1,10	0,60	0,40	0,20
v33	0,09	0,09	0,02	0,17	0,11	0,08	0,03
v34	0,04	0,04	0,01	0,07	0,04	0,03	0,02
v35	0,14	0,15	0,02	0,21	0,16	0,13	0,09
v36	67,46	66,20	17,28	116,00	78,20	54,70	28,10
v37	0,89	0,90	0,08	1,00	0,96	0,82	0,65
v38	1,90	1,90	0,35	3,30	2,10	1,60	1,10
v39	0,34	0,34	0,07	0,52	0,38	0,29	0,18
v40	0,23	0,22	0,03	0,35	0,24	0,20	0,16
v41	0,16	0,16	0,04	0,28	0,19	0,14	0,08
v42	0,08	0,07	0,02	0,13	0,09	0,06	0,04

Tabulka C.2: Základní statistiky *Dryopteris expansa* (163 vzorků).

Znak	Průměr	Medián	Směr. odchylka	Max	Kvantil 75%	Kvantil 25%	Min
v4	32,11	32,00	7,15	49,00	37,70	26,40	17,60
v5	22,41	21,50	6,89	42,60	27,00	17,30	7,50
v6	1,50	1,43	0,36	3,31	1,71	1,25	0,84
v7	10,07	9,80	2,24	19,10	11,40	8,50	5,70
v8	0,32	0,31	0,04	0,47	0,34	0,29	0,22
v9	18,04	17,60	3,90	35,10	20,20	15,20	10,50
v10	1,80	1,78	0,27	2,74	1,92	1,61	1,12
v11	30,05	30,10	9,01	55,50	36,60	22,90	11,50
v12	7,64	6,60	4,25	18,60	10,60	4,60	0,00
v13	8,82	8,70	2,07	17,60	10,00	7,30	4,50
v14	3,40	3,30	0,93	7,00	3,90	2,80	1,60
v15	2,26	2,20	0,54	4,60	2,50	1,90	1,30
v16	0,39	0,38	0,06	0,60	0,42	0,35	0,21
v17	1,50	1,50	0,23	2,44	1,64	1,34	0,77
v18	0,31	0,30	0,16	1,10	0,40	0,20	0,00
v19	0,68	0,70	0,25	1,70	0,80	0,50	0,00
v20	1,83	1,75	0,47	4,00	2,00	1,50	0,71
v21	2,13	2,00	0,65	6,00	2,33	1,71	1,00
v22	0,31	0,30	0,15	1,00	0,40	0,22	0,00
v23	0,53	0,53	0,07	0,84	0,57	0,49	0,40
v24	0,24	0,24	0,03	0,39	0,26	0,22	0,17
v25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
v26	2,22	2,21	0,32	3,38	2,44	2,00	1,57
v27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
v28	3,24	3,00	1,58	6,00	5,00	2,00	1,00
v29	47,65	47,71	2,69	55,66	49,22	46,00	38,40
v30	94,88	94,94	4,57	98,45	97,76	92,02	91,34
v31	0,70	0,70	0,26	2,40	0,80	0,50	0,20
v32	0,39	0,40	0,15	1,60	0,50	0,30	0,10
v33	0,08	0,08	0,03	0,22	0,09	0,06	0,02
v34	0,05	0,04	0,02	0,18	0,05	0,04	0,02
v35	0,16	0,15	0,03	0,36	0,17	0,14	0,10
v36	54,52	54,70	12,92	89,50	64,90	43,90	30,90
v37	0,88	0,88	0,09	1,04	0,96	0,81	0,47
v38	1,38	1,30	0,36	3,00	1,50	1,10	0,70
v39	0,28	0,28	0,05	0,47	0,31	0,24	0,15
v40	0,26	0,26	0,04	0,47	0,28	0,24	0,14
v41	0,11	0,10	0,02	0,19	0,12	0,09	0,05
v42	0,07	0,07	0,01	0,12	0,08	0,06	0,04

Tabulka C.3: Základní statistiky *Dryopteris carthusiana* (213 vzorků).

Znak	Průměr	Medián	Směr. odchylka	Max	Kvantil 75%	Kvantil 25%	Min
v4	47,38	47,25	10,69	66,30	55,30	40,40	25,80
v5	27,86	27,55	6,92	45,60	30,50	22,80	17,00
v6	1,75	1,77	0,42	2,81	2,03	1,43	0,98
v7	16,05	15,95	3,20	24,00	18,50	14,00	9,00
v8	0,35	0,33	0,06	0,59	0,36	0,31	0,28
v9	29,59	29,20	5,78	40,00	33,00	25,80	17,70
v10	1,60	1,64	0,21	1,94	1,78	1,49	0,92
v11	40,84	39,90	11,58	72,80	44,90	32,30	24,60
v12	12,99	13,60	7,61	28,10	17,10	9,60	0,00
v13	13,67	12,70	3,19	22,30	15,60	11,60	7,90
v14	6,22	6,00	1,69	11,90	7,00	5,10	3,70
v15	3,02	2,80	0,89	5,80	3,60	2,40	1,50
v16	0,46	0,45	0,07	0,65	0,50	0,40	0,33
v17	2,10	2,10	0,34	2,88	2,35	1,83	1,58
v18	0,74	0,80	0,28	1,40	0,90	0,50	0,30
v19	0,60	0,60	0,30	1,20	0,80	0,40	0,00
v20	2,50	2,42	0,56	3,67	3,00	2,00	1,67
v21	1,56	1,56	0,35	2,20	1,80	1,25	1,00
v22	0,56	0,53	0,19	1,00	0,73	0,43	0,25
v23	1,18	1,19	0,16	1,59	1,30	1,09	0,80
v24	0,42	0,42	0,06	0,53	0,47	0,38	0,28
v25	0,98	0,96	0,19	1,33	1,11	0,83	0,66
v26	2,84	2,79	0,30	3,56	3,05	2,67	2,24
v27	0,83	0,85	0,13	1,00	0,89	0,77	0,51
v28	3411,92	3474,00	1065,00	5369,00	4264,00	2685,00	1421,00
v29	43,72	44,05	3,54	51,77	45,58	41,40	37,89
v30	16,89	16,03	14,19	50,00	25,00	6,67	0,00
v31	1,25	1,20	0,38	2,30	1,40	1,00	0,60
v32	0,51	0,50	0,16	1,00	0,60	0,40	0,30
v33	0,09	0,09	0,02	0,14	0,11	0,07	0,06
v34	0,04	0,03	0,01	0,07	0,04	0,03	0,02
v35	0,14	0,14	0,02	0,17	0,15	0,12	0,09
v36	75,23	71,85	15,40	107,50	84,70	64,80	44,50
v37	0,85	0,85	0,09	1,00	0,92	0,78	0,68
v38	1,85	1,80	0,45	3,20	2,10	1,60	0,90
v39	0,30	0,28	0,07	0,56	0,33	0,25	0,20
v40	0,22	0,21	0,04	0,35	0,24	0,20	0,16
v41	0,13	0,13	0,04	0,31	0,15	0,11	0,08
v42	0,06	0,06	0,02	0,12	0,07	0,05	0,04

Tabulka C.4: Základní statistiky *Dryopteris × ambroseae* (38 vzorků).

Znak	Průměr	Medián	Směr. odchylka	Max	Kvantil 75%	Kvantil 25%	Min
v4	53,90	53,90	11,60	62,10	62,10	45,70	45,70
v5	27,25	27,25	7,00	32,20	32,20	22,30	22,30
v6	1,99	1,99	0,09	2,05	2,05	1,93	1,93
v7	17,25	17,25	3,04	19,40	19,40	15,10	15,10
v8	0,32	0,32	0,01	0,33	0,33	0,31	0,31
v9	28,75	28,75	1,91	30,10	30,10	27,40	27,40
v10	1,87	1,87	0,28	2,06	2,06	1,67	1,67
v11	42,65	42,65	14,07	52,60	52,60	32,70	32,70
v12	15,40	15,40	7,07	20,40	20,40	10,40	10,40
v13	13,25	13,25	3,89	16,00	16,00	10,50	10,50
v14	4,85	4,85	2,33	6,50	6,50	3,20	3,20
v15	2,85	2,85	0,78	3,40	3,40	2,30	2,30
v16	0,36	0,36	0,07	0,41	0,41	0,30	0,30
v17	1,65	1,65	0,37	1,91	1,91	1,39	1,39
v18	0,60	0,60	0,28	0,80	0,80	0,40	0,40
v19	0,75	0,75	0,07	0,80	0,80	0,70	0,70
v20	2,30	2,30	0,42	2,60	2,60	2,00	2,00
v21	1,75	1,75	0,18	1,88	1,88	1,62	1,62
v22	0,43	0,43	0,10	0,50	0,50	0,36	0,36
v23	0,97	0,97	0,10	1,04	1,04	0,90	0,90
v24	0,37	0,37	0,05	0,41	0,41	0,33	0,33
v25	0,36	0,36	0,01	0,37	0,37	0,35	0,35
v26	2,62	2,62	0,12	2,71	2,71	2,54	2,54
v27	0,37	0,37	0,03	0,39	0,39	0,35	0,35
v28	6557,50	6557,50	81,13	6827,00	6827,00	6288,00	6288,00
v29	43,99	43,99	3,32	46,34	46,34	41,64	41,64
v30	29,77	29,77	19,77	43,75	43,75	15,79	15,79
v31	1,05	1,05	0,35	1,30	1,30	0,80	0,80
v32	0,45	0,45	0,07	0,50	0,50	0,40	0,40
v33	0,08	0,08	0,00	0,08	0,08	0,08	0,08
v34	0,03	0,03	0,00	0,04	0,04	0,03	0,03
v35	0,14	0,14	0,01	0,14	0,14	0,13	0,13
v36	81,15	81,15	18,60	94,30	94,30	68,00	68,00
v37	0,76	0,76	0,09	0,82	0,82	0,70	0,70
v38	1,80	1,80	0,42	2,10	2,10	1,50	1,50
v39	0,24	0,24	0,02	0,26	0,26	0,23	0,23
v40	0,22	0,22	0,00	0,22	0,22	0,21	0,21
v41	0,09	0,09	0,02	0,10	0,10	0,07	0,07
v42	0,05	0,05	0,00	0,05	0,05	0,05	0,05

Tabulka C.5: Základní statistiky *Dryopteris* × *deweveri* (2 vzorky).

	v4	v5	v6	v7	v8	v9	v10	v11
v4	1	0,668	0,243	0,830	-0,196	0,791	0,232	0,780
v5	0,668	1	-0,509	0,589	-0,095	0,530	0,170	0,871
v6	0,243	-0,509	1	0,171	-0,118	0,201	0,060	-0,226
v7	0,830	0,589	0,171	1	0,340	0,964	-0,259	0,597
v8	-0,196	-0,095	-0,118	0,340	1	0,340	-0,901	-0,272
v9	0,791	0,530	0,201	0,964	0,340	1	-0,362	0,541
v10	0,232	0,170	0,060	-0,259	-0,901	-0,362	1	0,330
v11	0,780	0,871	-0,226	0,597	-0,272	0,541	0,330	1
v12	0,625	0,358	0,257	0,383	-0,398	0,351	0,408	0,749
v13	0,689	0,560	0,059	0,931	0,454	0,898	-0,366	0,489
v14	0,607	0,522	0,021	0,805	0,376	0,778	-0,306	0,473
v15	0,653	0,606	-0,032	0,805	0,288	0,771	-0,209	0,529
v16	0,222	0,224	-0,042	0,278	0,104	0,267	-0,082	0,233
v17	0,307	0,213	0,072	0,461	0,309	0,454	-0,277	0,222
v18	0,553	0,384	0,132	0,629	0,160	0,608	-0,114	0,410
v19	0,155	0,246	-0,169	0,235	0,165	0,203	-0,103	0,138
v20	0,273	0,144	0,125	0,360	0,174	0,360	-0,150	0,170
v21	-0,302	-0,132	-0,183	-0,292	0,015	-0,289	-0,010	-0,208
v22	0,332	0,168	0,169	0,351	0,042	0,350	-0,037	0,235
v23	0,387	0,204	0,162	0,588	0,382	0,585	-0,331	0,201
v24	0,324	0,218	0,087	0,513	0,345	0,502	-0,294	0,195
v25	0,351	0,099	0,252	0,554	0,397	0,584	-0,392	0,115
v26	0,256	0,022	0,250	0,423	0,348	0,452	-0,348	0,050
v27	0,326	0,049	0,293	0,530	0,414	0,568	-0,422	0,075
v28	0,327	0,066	0,274	0,541	0,426	0,560	-0,405	0,100
v29	-0,076	-0,025	-0,049	-0,081	-0,037	-0,080	0,015	-0,042
v30	-0,109	-0,088	-0,005	-0,090	0,037	-0,097	-0,013	-0,119
v31	0,634	0,456	0,120	0,683	0,118	0,650	-0,067	0,478
v32	0,551	0,456	0,022	0,538	0,001	0,502	0,036	0,461
v33	0,194	0,076	0,103	0,047	-0,263	0,024	0,263	0,174
v34	-0,038	-0,021	-0,020	-0,263	-0,426	-0,275	0,390	0,062
v35	-0,099	-0,033	-0,099	-0,323	-0,414	-0,351	0,419	0,024
v36	0,934	0,880	-0,080	0,791	-0,171	0,738	0,228	0,895
v37	-0,328	-0,046	-0,310	-0,124	0,327	-0,120	-0,305	-0,266
v38	0,686	0,580	0,004	0,777	0,198	0,724	-0,105	0,537
v39	-0,298	-0,089	-0,236	0,189	0,883	0,193	-0,804	-0,326
v40	-0,187	-0,043	-0,162	-0,346	-0,323	-0,351	0,304	-0,046
v41	-0,044	0,083	-0,174	0,323	0,668	0,317	-0,600	-0,065
v42	-0,426	-0,101	-0,362	-0,074	0,598	-0,073	-0,540	-0,334

Tabulka C.6: Spearmanovy korelační koeficienty – 1. část

	v12	v13	v14	v15	v16	v17	v18	v19
v4	0,625	0,689	0,607	0,653	0,222	0,307	0,553	0,155
v5	0,358	0,560	0,522	0,606	0,224	0,213	0,384	0,246
v6	0,257	0,059	0,021	-0,032	-0,042	0,072	0,132	-0,169
v7	0,383	0,931	0,805	0,805	0,278	0,461	0,629	0,235
v8	-0,398	0,454	0,376	0,288	0,104	0,309	0,160	0,165
v9	0,351	0,898	0,778	0,771	0,267	0,454	0,608	0,203
v10	0,408	-0,366	-0,306	-0,209	-0,082	-0,277	-0,114	-0,103
v11	0,749	0,489	0,473	0,529	0,233	0,222	0,410	0,138
v12	1	0,221	0,246	0,240	0,165	0,161	0,302	-0,062
v13	0,221	1	0,820	0,821	0,219	0,466	0,613	0,279
v14	0,246	0,820	1	0,802	0,708	0,767	0,783	0,083
v15	0,240	0,821	0,802	1	0,383	0,259	0,545	0,292
v16	0,165	0,219	0,708	0,383	1	0,748	0,585	-0,167
v17	0,161	0,466	0,767	0,259	0,748	1	0,696	-0,176
v18	0,302	0,613	0,783	0,545	0,585	0,696	1	-0,323
v19	-0,062	0,279	0,083	0,292	-0,167	-0,176	-0,323	1
v20	0,154	0,361	0,530	0,273	0,433	0,571	0,824	-0,496
v21	-0,244	-0,255	-0,474	-0,210	-0,488	-0,554	-0,819	0,706
v22	0,244	0,320	0,530	0,262	0,499	0,587	0,889	-0,686
v23	0,132	0,592	0,610	0,431	0,364	0,545	0,518	0,043
v24	0,112	0,526	0,612	0,389	0,433	0,583	0,521	0,013
v25	0,102	0,545	0,470	0,352	0,177	0,397	0,410	0,038
v26	0,065	0,413	0,267	0,227	-0,026	0,202	0,221	0,020
v27	0,088	0,512	0,395	0,294	0,080	0,335	0,350	0,011
v28	0,116	0,530	0,449	0,333	0,145	0,385	0,361	0,026
v29	-0,047	-0,070	-0,030	-0,043	0,045	-0,006	-0,029	-0,038
v30	-0,115	-0,072	-0,115	-0,065	-0,089	-0,117	-0,116	-0,021
v31	0,340	0,657	0,805	0,620	0,586	0,655	0,930	-0,157
v32	0,292	0,505	0,549	0,538	0,360	0,332	0,458	0,214
v33	0,245	-0,041	0,278	0,056	0,552	0,403	0,637	-0,478
v34	0,140	-0,354	-0,147	-0,163	0,197	-0,061	-0,058	-0,050
v35	0,086	-0,413	-0,167	-0,176	0,239	-0,076	-0,055	0,156
v36	0,555	0,690	0,617	0,692	0,236	0,281	0,521	0,215
v37	-0,432	0,214	0,075	0,093	-0,152	0,014	0,002	0,133
v38	0,285	0,780	0,769	0,761	0,408	0,457	0,619	0,426
v39	-0,500	0,440	0,315	0,260	0,001	0,231	0,123	0,179
v40	-0,032	-0,429	-0,188	0,111	0,196	-0,453	-0,230	-0,004
v41	-0,221	0,452	0,734	0,449	0,704	0,710	0,526	-0,025
v42	-0,508	0,107	0,176	0,352	0,166	-0,102	-0,036	0,148

Tabulka C.6: Spearmanovy korelační koeficienty – 2. část

	v20	v21	v22	v23	v24	v25	v26	v27
v4	0,273	-0,302	0,332	0,387	0,324	0,351	0,256	0,326
v5	0,144	-0,132	0,168	0,204	0,218	0,099	0,022	0,049
v6	0,125	-0,183	0,169	0,162	0,087	0,252	0,250	0,293
v7	0,360	-0,292	0,351	0,588	0,513	0,554	0,423	0,530
v8	0,174	0,015	0,042	0,382	0,345	0,397	0,348	0,414
v9	0,360	-0,289	0,350	0,585	0,502	0,584	0,452	0,568
v10	-0,150	-0,010	-0,037	-0,331	-0,294	-0,392	-0,348	-0,422
v11	0,170	-0,208	0,235	0,201	0,195	0,115	0,050	0,075
v12	0,154	-0,244	0,244	0,132	0,112	0,102	0,065	0,088
v13	0,361	-0,255	0,320	0,592	0,526	0,545	0,413	0,512
v14	0,530	-0,474	0,530	0,610	0,612	0,470	0,267	0,395
v15	0,273	-0,210	0,262	0,431	0,389	0,352	0,227	0,294
v16	0,433	-0,488	0,499	0,364	0,433	0,177	-0,026	0,080
v17	0,571	-0,554	0,587	0,545	0,583	0,397	0,202	0,335
v18	0,824	-0,819	0,889	0,518	0,521	0,410	0,221	0,350
v19	-0,496	0,706	-0,686	0,043	0,013	0,038	0,020	0,011
v20	1	-0,732	0,858	0,396	0,382	0,355	0,213	0,332
v21	-0,732	1	-0,953	-0,320	-0,333	-0,244	-0,122	-0,207
v22	0,858	-0,953	1	0,361	0,368	0,296	0,163	0,264
v23	0,396	-0,320	0,361	1	0,775	0,818	0,534	0,633
v24	0,382	-0,333	0,368	0,775	1	0,544	0,076	0,422
v25	0,355	-0,244	0,296	0,818	0,544	1	0,713	0,917
v26	0,213	-0,122	0,163	0,534	0,076	0,713	1	0,766
v27	0,332	-0,207	0,264	0,633	0,422	0,917	0,766	1
v28	0,307	-0,211	0,256	0,647	0,538	0,716	0,629	0,752
v29	-0,009	-0,029	0,000	0,042	0,049	-0,004	-0,074	-0,050
v30	-0,085	0,064	-0,079	-0,016	-0,068	0,007	0,008	0,004
v31	0,583	-0,740	0,751	0,495	0,508	0,364	0,184	0,293
v32	-0,073	-0,316	0,226	0,273	0,291	0,151	0,058	0,082
v33	0,412	-0,753	0,696	0,109	0,181	-0,022	-0,136	-0,086
v34	-0,411	-0,124	-0,033	-0,226	-0,147	-0,324	-0,312	-0,370
v35	-0,276	0,063	-0,124	-0,238	-0,164	-0,356	-0,374	-0,418
v36	0,232	-0,246	0,282	0,330	0,294	0,260	0,168	0,222
v37	0,040	0,079	-0,055	0,026	0,048	-0,008	-0,009	-0,027
v38	0,204	-0,225	0,252	0,460	0,452	0,329	0,174	0,255
v39	0,152	0,042	0,010	0,294	0,279	0,284	0,248	0,286
v40	-0,230	0,141	-0,172	-0,384	-0,329	-0,413	-0,376	-0,440
v41	0,442	-0,348	0,392	0,448	0,492	0,304	0,136	0,238
v42	-0,009	0,124	-0,095	0,009	0,042	-0,035	-0,049	-0,059

Tabulka C.6: Spearmanovy korelační koeficienty – 3. část

	v28	v29	v30	v31	v32	v33	v34	v35
v4	0,327	-0,076	-0,109	0,634	0,551	0,194	-0,038	-0,099
v5	0,066	-0,025	-0,088	0,456	0,456	0,076	-0,021	-0,033
v6	0,274	-0,049	-0,005	0,120	0,022	0,103	-0,020	-0,099
v7	0,541	-0,081	-0,090	0,683	0,538	0,047	-0,263	-0,323
v8	0,426	-0,037	0,037	0,118	0,001	-0,263	-0,426	-0,414
v9	0,560	-0,080	-0,097	0,650	0,502	0,024	-0,275	-0,351
v10	-0,405	0,015	-0,013	-0,067	0,036	0,263	0,390	0,419
v11	0,100	-0,042	-0,119	0,478	0,461	0,174	0,062	0,024
v12	0,116	-0,047	-0,115	0,340	0,292	0,245	0,140	0,086
v13	0,530	-0,070	-0,072	0,657	0,505	-0,041	-0,354	-0,413
v14	0,449	-0,030	-0,115	0,805	0,549	0,278	-0,147	-0,167
v15	0,333	-0,043	-0,065	0,620	0,538	0,056	-0,163	-0,176
v16	0,145	0,045	-0,089	0,586	0,360	0,552	0,197	0,239
v17	0,385	-0,006	-0,117	0,655	0,332	0,403	-0,061	-0,076
v18	0,361	-0,029	-0,116	0,930	0,458	0,637	-0,058	-0,055
v19	0,026	-0,038	-0,021	-0,157	0,214	-0,478	-0,050	0,156
v20	0,307	-0,009	-0,085	0,583	-0,073	0,412	-0,411	-0,276
v21	-0,211	-0,029	0,064	-0,740	-0,316	-0,753	-0,124	0,063
v22	0,256	0,000	-0,079	0,751	0,226	0,696	-0,033	-0,124
v23	0,647	0,042	-0,016	0,495	0,273	0,109	-0,226	-0,238
v24	0,538	0,049	-0,068	0,508	0,291	0,181	-0,147	-0,164
v25	0,716	-0,004	0,007	0,364	0,151	-0,022	-0,324	-0,356
v26	0,629	-0,074	0,008	0,184	0,058	-0,136	-0,312	-0,374
v27	0,752	-0,050	0,004	0,293	0,082	-0,086	-0,370	-0,418
v28	1	-0,071	-0,063	0,326	0,145	-0,057	-0,314	-0,378
v29	-0,071	1	0,144	-0,034	-0,040	0,038	0,029	0,034
v30	-0,063	0,144	1	-0,116	-0,065	-0,072	-0,011	-0,021
v31	0,326	-0,034	-0,116	1	0,733	0,689	0,181	0,105
v32	0,145	-0,040	-0,065	0,733	1	0,503	0,583	0,356
v33	-0,057	0,038	-0,072	0,689	0,503	1	0,594	0,541
v34	-0,314	0,029	-0,011	0,181	0,583	0,594	1	0,784
v35	-0,378	0,034	-0,021	0,105	0,356	0,541	0,784	1
v36	0,230	-0,058	-0,113	0,605	0,559	0,154	-0,028	-0,072
v37	-0,008	0,041	0,039	-0,021	-0,058	-0,218	-0,264	-0,250
v38	0,299	-0,062	-0,098	0,787	0,800	0,321	0,134	0,199
v39	0,305	-0,010	0,048	0,079	-0,027	-0,297	-0,440	-0,428
v40	-0,427	0,049	0,032	-0,180	-0,026	0,159	0,370	0,451
v41	0,302	0,010	-0,055	0,489	0,240	0,203	-0,151	-0,120
v42	-0,014	0,024	0,054	-0,044	-0,036	-0,158	-0,144	-0,080

Tabulka C.6: Spearmanovy korelační koeficienty – 4. část

	v36	v37	v38	v39	v40	v41	v42
v4	0,934	-0,328	0,686	-0,298	-0,187	-0,044	-0,426
v5	0,880	-0,046	0,580	-0,089	-0,043	0,083	-0,101
v6	-0,080	-0,310	0,004	-0,236	-0,162	-0,174	-0,362
v7	0,791	-0,124	0,777	0,189	-0,346	0,323	-0,074
v8	-0,171	0,327	0,198	0,883	-0,323	0,668	0,598
v9	0,738	-0,120	0,724	0,193	-0,351	0,317	-0,073
v10	0,228	-0,305	-0,105	-0,804	0,304	-0,600	-0,540
v11	0,895	-0,266	0,537	-0,326	-0,046	-0,065	-0,334
v12	0,555	-0,432	0,285	-0,500	-0,032	-0,221	-0,508
v13	0,690	0,214	0,780	0,440	-0,429	0,452	0,107
v14	0,617	0,075	0,769	0,315	-0,188	0,734	0,176
v15	0,692	0,093	0,761	0,260	0,111	0,449	0,352
v16	0,236	-0,152	0,408	0,001	0,196	0,704	0,166
v17	0,281	0,014	0,457	0,231	-0,453	0,710	-0,102
v18	0,521	0,002	0,619	0,123	-0,230	0,526	-0,036
v19	0,215	0,133	0,426	0,179	-0,004	-0,025	0,148
v20	0,232	0,040	0,204	0,152	-0,230	0,442	-0,009
v21	-0,246	0,079	-0,225	0,042	0,141	-0,348	0,124
v22	0,282	-0,055	0,252	0,010	-0,172	0,392	-0,095
v23	0,330	0,026	0,460	0,294	-0,384	0,448	0,009
v24	0,294	0,048	0,452	0,279	-0,329	0,492	0,042
v25	0,260	-0,008	0,329	0,284	-0,413	0,304	-0,035
v26	0,168	-0,009	0,174	0,248	-0,376	0,136	-0,049
v27	0,222	-0,027	0,255	0,286	-0,440	0,238	-0,059
v28	0,230	-0,008	0,299	0,305	-0,427	0,302	-0,014
v29	-0,058	0,041	-0,062	-0,010	0,049	0,010	0,024
v30	-0,113	0,039	-0,098	0,048	0,032	-0,055	0,054
v31	0,605	-0,021	0,787	0,079	-0,180	0,489	-0,044
v32	0,559	-0,058	0,800	-0,027	-0,026	0,240	-0,036
v33	0,154	-0,218	0,321	-0,297	0,159	0,203	-0,158
v34	-0,028	-0,264	0,134	-0,440	0,370	-0,151	-0,144
v35	-0,072	-0,250	0,199	-0,428	0,451	-0,120	-0,080
v36	1	-0,227	0,698	-0,232	-0,134	0,006	-0,309
v37	-0,227	1	0,050	0,712	-0,214	0,378	0,525
v38	0,698	0,050	1	0,169	-0,154	0,401	0,052
v39	-0,232	0,712	0,169	1	-0,335	0,674	0,697
v40	-0,134	-0,214	-0,154	-0,335	1	-0,089	0,390
v41	0,006	0,378	0,401	0,674	-0,089	1	0,595
v42	-0,309	0,525	0,052	0,697	0,390	0,595	1

Tabulka C.6: Spearmanovy korelační koeficienty – 5. část

	Eigenvalue	Difference	Proportion	Cumulative
1	12,7151381	6,2470401	0,3260	0,3260
2	6,4680981	2,0465006	0,1658	0,4919
3	4,4215974		0,1134	0,6053

	Prin1	Prin2	Prin3
v4	0,204156	0,196422	0,187508
v5	0,153682	0,140296	0,194459
v6	0,025354	0,049772	-0,029685
v7	0,251153	0,013175	0,171296
v8	0,096856	-0,318803	-0,023219
v9	0,244923	-0,002716	0,159382
v10	-0,084831	0,311180	0,037878
v11	0,156599	0,222787	0,181399
v12	0,096511	0,239105	0,090365
v13	0,245464	-0,068889	0,156189
v14	0,257039	-0,015337	-0,035025
v15	0,210675	-0,001997	0,127661
v16	0,139898	0,063212	-0,258334
v17	0,187958	-0,027211	-0,184915
v18	0,231628	0,072122	-0,193558
v19	0,000688	-0,053483	0,354260
v20	0,152839	-0,020016	-0,246672
v21	-0,130314	-0,091414	0,314170
v22	0,169487	0,072458	-0,305264
v23	0,216887	-0,116736	0,000612
v24	0,168767	-0,048743	-0,069300
v25	0,203279	-0,132040	0,022303
v26	0,088624	-0,104089	0,096096
v27	0,196075	-0,137924	0,026899
v28	0,165298	-0,128412	0,034191
v29	-0,027372	-0,018963	-0,042928
v30	-0,069526	-0,056948	-0,009484
v31	0,235196	0,120394	-0,139154
v32	0,149721	0,165362	0,019377
v33	0,083309	0,226462	-0,317886
v34	-0,053172	0,236938	-0,114771
v35	-0,070203	0,224030	-0,104776
v36	0,200028	0,189023	0,207872
v37	0,006501	-0,223060	-0,015888
v38	0,216191	0,076329	0,098303
v39	0,075667	-0,339144	-0,025287
v40	-0,093306	0,130292	-0,077038
v41	0,149877	-0,197046	-0,201214
v42	0,009366	-0,238827	-0,079472

Tabulka C.7: Výstup analýzy PCA (39 znaků). Pro každou osu bylo zvýrazněno pět nejvyšších absolutních hodnot vlastních vektorů.

D CD s fotodokumentací a DP

Přiložené CD obsahuje:

- Diplomová práce ve formátu pdf
- Výběr z fotodokumentace herbářových položek
- Primární data
- Kompletní výstupy statistických analýz
- Výsledky průtokové cytometrie