

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů
Katedra: Katedra biologických disciplín
Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

**Systematika a proměnlivost zdravínku jarního
Odontites vernus (Bellardi) Dumort. v České republice**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Vít Joza

Konzultant:

Mgr. Petr Koutecký, Ph.D. (PřF JU)

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 30. listopadu 2012

.....

Tereza Baďurová

Poděkování

Mé poděkování patří především konzultantu Petru Kouteckému nejen za rady a věcné připomínky, ale také za množství času, které mi věnoval při odborných konzultacích, pomoc při statistickém zpracování a umožnění práce v laboratoři. Dále děkuji školiteli Vítu Jozovi za možnost a podporu studovat danou problematiku, za přínosné rady a rozsáhlý seznam lokalit zdravínek v ČR.

Další poděkování patří Jakubu Těšiteli a katedře PřF za zpřístupnění zde citované literatury a všem botanikům, kteří mi poslali či přivezli nalezené zdravínky.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým přátelům a rodině za pomoc, podporu a trpělivost při psaní této práce.

Abstrakt

V rámci diplomové práce byl studován agregát *Odontites vernus*. Podle literárních zdrojů byly pro střední Evropu udávány dva taxony z agregátu *Odontites vernus*, které byly od sebe oddělovány na základě sezónních typů a ploidie. Jedná se o časně kvetoucí tetraploid *Odontites vernus* subsp. *vernus* ($2n = 4x = 40$) a pozdně kvetoucí diploid *Odontites vernus* subsp. *serotinus* ($2n = 2x = 18$).

Na území ČR bylo sesbíráno 33 populací, u kterých byla změřena úroveň ploidie a 27 morfologických znaků pro morfologickou analýzu. Podle výsledků se ve střední Evropě nevyskytují dva, nýbrž tři taxony. Jedná se o dva sezónní typy v rámci tetraploidů a jednu skupinu pozdních diploidů. Jednotlivé sezónní cytotypy se od sebe oddělují na základě sezónnosti, úrovní ploidie, morfologie a ekologie.

Klíčová slova: *Odontites vernus*, sezónní variabilita, průtoková cytometrie, ploidie

Abstract

The Master's thesis studied the *Odontites vernus* group in the Czech Republic. The group was presented by two different taxa based on the seasonal types and the ploidy levels: an early flowering tetraploid *Odontites vernus* subsp. *vernus* ($2n = 4x = 40$) and a late-flowering diploid *Odontites vernus* subsp. *serotinus* ($2n = 2x = 18$).

Plants from 33 populations were sampled for measuring the ploidy level and 27 morphological characters for morphological analysis. Two ploidy levels were confirmed in the Czech Republic and a new late flowering tetraploid taxon ($2n = 4x = 40$) was found. The three taxa were separated from each other based on the seasonal variation, ploidy level, morphology and ecology.

Key words: *Odontites vernus*, seasonal variation, flow cytometry, ploidy level

Obsah

1 Úvod.....	1
1.1 Rod <i>Odontites</i>	1
1.2 <i>Odontites vernus</i> agg.....	1
1.2.1. Charakteristika <i>Odontites vernus</i> agg.	1
1.2.2. <i>Odontites vernus</i> agg. v Evropě	2
Členění <i>Odontites vernus</i> agg.	3
1.2.3. <i>Odontites vernus</i> agg. V České republice	4
1.3 Sezónní variabilita.....	5
1.4 Ploidie.....	6
2 Cíl práce	9
3 Metodika.....	10
3.1 Sběr a zpracování materiálu	10
3.2 Průtoková cytometrie	12
3.3 Morfometrická analýza	12
3.4 Chromozómové počty	15
4. Výsledky.....	16
4.1 Stanovení DNA ploidní úrovně.....	16
4.2 Chromozómové počty	18
4.3 Morfometrická analýza	18
4.3.1. Měřené znaky.....	18
4.4. Statistické zpracování dat.....	19
4.4.1. Analýza hlavních komponent (PCA)	19
4.4.2. Diskriminační analýza.....	24
Kanonická diskriminační analýza (CDA)	24
Klasifikační diskriminační analýza.....	28
4.4.3. Popisná statistika.....	30
5 Diskuse	35
5.1 Ploidie.....	35
5.2 Chromozómové počty	35
5.3 Morfologická variabilita.....	36
<i>Odontites vernus</i> subsp. <i>vernus</i>	37
<i>Odontites vernus</i> subsp. <i>serotinus</i>	37
5.4 Stanovištní podmínky.....	38
5.5 Souhrn	39
6 Závěr.....	40
7 Seznam literatury.....	41
Soupis tabulek	44
Soupis obrázků	45
Příloha	46

1 Úvod

1.1 Rod *Odontites*

Rod *Odontites* Ludw. byl ještě nedávno řazen společně s dalšími rody poloparazitických rostlin *Euphrasia* L., *Melampyrum* L., *Rhinanthus* L. do tribu *Rhinantheae*, čeledi *Scrophulariaceae*. Na základě molekulárních studií byl celý tribus *Rhinantheae* přesunut do čeledi *Orobanchaceae* (OLMSTEAD ET AL. 2001; TANK ET AL. 2006), do skupiny označované jako *Rhinanthoid Orobanchaceae* (TĚŠITEL ET AL. 2010).

Z velké části je rod *Odontites* nazýván tzv. kritickým taxonem. Mezi hlavní faktory, které komplikují vymezení vnitřních taxonů, se řadí vysoká vnitrodruhová variabilita a fenotypová plasticita. Značnou komplikaci také představuje sezónní variabilita, která v minulosti přispěla k popsání velkého množství taxonů. Dodnes je problematika vymezení druhu v rámci rodu *Odontites* neustálená.

Nejnovější celosvětovou revizí rodu je monografie Bolligera z roku 1996, v níž autor rozlišuje v rodě *Odontites* 26 druhů (BOLLIGER 1996). Podle Bolligera je rod ve střední Evropě zastoupen dvěma agregáty, *Odontites luteus* a námi zkoumaný *Odontites vernus* agg.

1.2 *Odontites vernus* agg.

1.2.1. Charakteristika *Odontites vernus* agg.

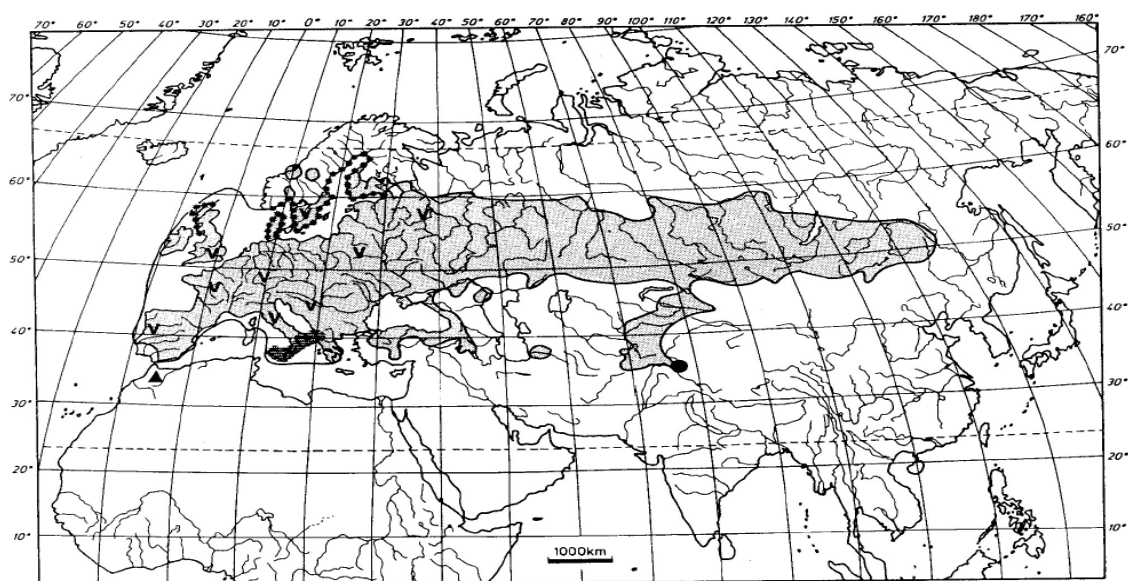
Jednoleté, poloparazitické nezláznaté rostliny s řídkým kořenovým vlášením a haustorii (pokud je k dispozici hostitel; KUBÁT 2000). Lodyhy přímé, v průřezu téměř 4hranné, krátce hustě přitiskle chlupaté, dosahující délky 10 až 60 cm (vzácně 100 cm; MICHALKOVÁ 1997). Větve sterilní nebo nesoucí květenství. Listy přisedlé, vstřícné. Tvar listu kopinatý až úzce kopinatý, tupě zubatý. Květy vstřícné, na jednu stranu lodyhy skloněné a tvořící jednostranné hroznovité květenství, rozkvétající zdola. Listeny podobné listům, zmenšující se směrem vzhůru. Kalich trubkovitý, kališní cípy čtyři. Horní kališní cíp větší než dolní cíp (SNOGERUP 1983). Koruna dvoupyská, chlupatá, zbarvena do růžova. Horní pysk přilbovitý, dolní 3cípý, prostřední cíp větší než cípy postranní, koruna téměř kryjící tyčinky, přibližné délky dolního pysku. Tyčinky 4, prašníky žlutohnědé, konektiv chlupatý. Semeník s 20-30 vajíčky (HRON

1974), čnělka nitkovitá, delší než koruna, po opadnutí kalicha daleko vyčnívající. Semena 1,4-2,0 mm dlouhá (BOLLIGER 1996), světle šedá.

Na jedné rostlině dozrává několik set až tisíc semen, které nejlépe klíčí po přezimování v půdě na jaře z hloubky 2 cm. Existenčně nejlépe se mohou uplatnit rostliny, které se krátce po vyklíčení dostanou do styku s hostitelskými rostlinami (HRON 1974).

1.2.2. *Odontites vernus* agg. v Evropě

Tento agregát patří mezi kritické skupiny, ve kterých je velmi těžké definovat významné determinační znaky a jasně vymezit jednotlivé taxony. V rámci celého rodu je *Odontites vernus* agg. považován za taxon s geograficky nejrozsáhlejším areálem, který sahá od západní Evropy až po Himaláje a Sibiř (BOLLIGER 1996; obr. č.1). Velikost i ekologická rozmanitost areálu přispívá k obtížnějšímu zkoumání jednotlivých taxonů. Další komplikací je vysoká fenotypová plasticita nejen v závislosti na prostředí, ekologii, ale i na druhu hostitele. Poloparazit může být ovlivněn výběrem hostitelského druhu, což se může projevat změnou celkového počtu článků, počtu fertlních větví, velikostí květenství a barvou květu (SNOGERUP 1983). Dalším významným problémem je sezónní variabilita, která může představovat tvorbu minimálně dvou různých morfologicky, fenologicky a často i ekologicky definovaných typů (ZOPFI 1993, 1997; ŠTECH 2000; TĚŠITEL 2005). V neposlední řadě je problémem existence morfologicky přechodných typů, které se nedají jasně přiřadit k některému z taxonů.



Obrázek č.1: Geografické rozšíření *Odontites vernus* agg. (MEUSEL IN BOLLIGER 1993)
Legenda: barevná výplň - *Odontites vulgaris*; značka V - *Odontites vernus*; značka ●●● *Odontites litoralis*

Mnoho autorů se snažilo experimentálně nalézt znaky, které by se daly považovat u *Odontites vernus* agg. za klíčové. V literatuře jsou nejčastěji udávány doba kvetení, počet vegetativních a interkalárních článků, počet větví, stupeň ploidie a ekologické nároky (SNOGERUP 1983; BOLLIGER 1996). Pokud jde o morfologické znaky, nejdůležitější roli zde hraje sezónní variabilita (viz odstavec Sezónní variabilita), kdy časně kvetoucí rostliny jsou nižší, mívají méně větví, méně vegetativních i interkalárních článků, větší listy, větší květy a menší květenství. Naopak pozdně kvetoucí typy jsou vzrůstově mohutnější s větším počtem vegetativních i interkalárních článků, rostliny bývají hodně větvené, mají menší listy v poměru s časně kvetoucím typem, menší květy a mohutnější květenství (SNOGERUP 1983; KUBÁT 2000).

Členění *Odontites vernus* agg.

Existují dva základní klasifikační koncepty. V prvním je chápán *Odontites vernus* agg. jako soubor několika druhů, které se mohou dále rozlišovat do poddruhů (SCHNEIDER 1964; SNOGERUP 1983; BOLLIGER 1996). Ve druhém jsou taxony brány za sezónní typy (důsledek sezónní variability) nebo ekotypy a je jim tak přiřazována nanejvýš hodnota poddruhu (WEBB & CAMARASA 1972; HARTL 1974; KUBÁT 2000).

V pojetí Bolligera a Snogerupa je *Odontites vernus* agg. v Evropě zastoupen 3 druhy (SNOGERUP 1983; BOLLIGER 1996):

*Odontites verna** (Bellardi) Dumort.

Odontites vulgaris Moench

Odontites litoralis Fries

* v souladu s Mezinárodním kódem botanické nomenklatury (KUBÁT 2000; dále jen ICBN) je jméno *Odontites* mužského rodu (ICBN, Art. 62.4), proto musí být opravena jména s koncovkami rodu ženského: *Odontites verna* na *Odontites vernus*

Taxonem *O. litoralis* se důkladně zabýval Snogerup (SNOGERUP 1983), který jej považoval za samostatný druh. Podle sezónnosti jej rozdělil na dva poddruhy (tabulka č.1). *O. litoralis* je přímořský s výskytem pouze v Pobaltí, jižním Norsku a Nizozemsku. Protože se v České republice nevyskytuje, dále se jím ve své diplomové práci nezabývám.

U. Schneider rozeznává dva druhy. Jedná se o časně kvetoucí *O. verna* a pozdně kvetoucí *O. rubra* (Baumg.) Opitz, který se dále člení do třech poddruhů, *O. rubra* subsp. *rubra*, *O. rubra* subsp. *rothmaleri* a *O. rubra* subsp. *pumila* (SCHNEIDER 1964). V botanickém klíči na členění upozornil Fröhner, sám je však označil za jeden morfologicky variabilní taxon, *Odontites vulgaris* (Bellardi) Dumort. (FRÖHNER IN ROTHMALER 1974).

Na území Slovenska jsou udávány dva druhy, tetraploidní *Odontites vernus* a diploidní *Odontites vulgaris* (MICHALKOVÁ 1997). Michalková označuje oba taxony za morfologicky variabilní, velmi těžko od sebe rozeznatelné. *O. vernus* sice rozkvétá dříve, avšak doba kvetení je prodloužena až do září, což umožňuje překrývání fenofáze s *O. vulgaris* (doba kvetení od srpna do října). Podle autorky má doba kvetení malou diagnostickou hodnotu.

Ve Flora Europaea jsou výše zmíněné taxony chápány jako poddruhy *Odontites verna* (Bellardi) Dumort. Autoři uznávají, že druh je velmi variabilní a na lokální populace existují odlišné pohledy. Při zařazování do systému kladli důraz na jasně definované ekotypy, často citované jako sezónní typy (WEBB & CAMARASA 1972).

Navržená taxonomická klasifikace *Odontites vernus* agg. (ve smyslu BOLLIGER 1996) je založena na experimentálních výsledcích Snogerupa. Ve své studii Snogerup (1983) rozlišuje druhy na základě stupně ploidie a míry hybridizace. *O. vernus*, časně kvetoucí typ, byl označen za geneticky izolovaný od dalších dvou druhů následkem rozdílného stupně ploidie ($2n = 4x = 40$). *O. vulgaris* (pozdně kvetoucí typ) a *O. litoralis* (časně i pozdně kvetoucí typ) mají stejnou plodní úroveň ($2n = 2x = 18$ nebo 20), avšak lze je od sebe morfologicky odlišit. Tyto dva druhy se neliší stupněm ploidie.

1.2.3. *Odontites vernus* agg. V České republice

Kubát (2000) v Květeně ČR pojímá koncept agregátu podobně jako Flora Europaea (WEBB & CAMARASA 1972) a přes hybridní bariéru slučuje *O. vernus* a *O. vulgaris* do jednoho druhu jako poddruhy vymezené zejména na základě sezónní variability, *Odontites vernus* subsp. *vernus* (časně kvetoucí tetraploidní typ) a *Odontites vernus* subsp. *serotinus* (pozdně kvetoucí diploidní typ).

Zatímco pozdní ekotyp ($2n = 18$ nebo 20) se vyskytuje hojně, časný ekotyp ($2n = 40$) se na území ČR vyskytuje vzácněji. V současné verzi Červeného seznamu ČR je *O. vernus* subsp. *vernus* zařazen v kategorii C2t (GRULICH 2012). Dříve se tento polní plevel vyskytoval mnohem hojněji, ale s velkou pravděpodobností důsledkem změny zemědělského systému

a používání hnojiv byla početnost jedinců snížena a tím narušena stabilita populací (SNOGERUP 1983).

1.3 Sezónní variabilita

Sezónní variabilita je jedním z nejvýznamnějších jevů ovlivňující vnitrodruhovou variabilitu u *Odontites vernus* agg. (WEBB & CAMARASA 1972).

Jako první si jevu všiml Wettstein (1895), který sezónní dimorfismus popsal u poloparazitických zástupců z čeledi *Orobanchaceae* (*Odontites*, *Euphrasia*, *Rhinanthus*, *Melampyrum*). Wettstein upozornil na spojitost časně a pozdně kvetoucích blízce příbuzných taxonů a následně zjistil, že během jednoho vegetačního období lze u některých skupin rozlišit dva fenologicky odlišné typy, časně kvetoucí typ (aestivální) a pozdně kvetoucí typ (autumnální). Zajímavá je domněnka, že vznik těchto typů způsobil člověk systémem sběrem sena, selekcí kosením, což bylo později zpochybněno, protože sezónní dimorfismus se vyskytuje i v oblastech, kde senoseč nebyla obvyklá (SCHWARZ 1935).

Další významným rozsáhlým konceptem je teorie pseudosezónního polymorfismu (SOÓ 1927). Autor poukázal u rodu *Melampyrum* nejen na dobu kvetení, ale také na značný vliv klimatických, edafických a biologických faktorů na jedince. V rámci jednotlivých druhů následně vyčlenil několik ekotypů. Jako klíčové znaky použil zejména počet lodyžních článků, počet interkalárních článků, přítomnost bočních větví a přítomnost děložních listů v době kvetení.

Jedna z posledních rozsáhlých studií sezónní variability je práce Zopfiho na rodech *Rhinanthus* a *Euphrasia*, který se přiklání k názoru, že sezónní typy se vytvořily postupnou adaptací na určitý gradient prostředí (ZOPFI 1993, 1998). Pravděpodobně by se mohlo také jednat o spojitost s činností člověka a nově zavedeným managementem. Nejen Zopfí, ale i jiní autoři shledávají podstatu vzniku sezónních typů jako geneticky podmíněnou, což se snaží mnoha studiemi dokázat. Za klíčové znaky sezónních typů u rodu *Melampyrum*, *Rhinanthus*, *Euphrasia* nebo *Odontites* jsou udávány: doba květu, počet vegetativních a interkalárních internodií, počet párů kvetoucích větví (YEO 1954; SNOGERUP 1983; ŠTECH 2000).

U *Odontites vernus* agg. je podle literatury sezónní variabilita spojena také se stupněm plodie. Vyskytují se zde časně a pozdně kvetoucí typy, které jsou mezi sebou rozdílné, jak v ekologii, tak v ploidii (SCHNEIDER 1964; BOLLIGER 1996; KUBÁT 2000).

1.4 Ploidie

V agregátu *O. vernus* nalezneme ve střední Evropě dvě popsane ploidie: tetraploidní ($2n = 4x = 40$) pro časne kvetoucí typ *Odontites vernus* subsp. *vernus* a diploidní ($2n = 2x = 18$: SNOGERUP 1983; BOLLIGER 1996; MICHALKOVÁ 1998; DOBEŠ & VITEK 2000; $2n = 2x = 20$: ROTTGARDT 1956; SCHNEIDER 1964; WEBB & CAMARASA 1972; HARTL 1974; ALBERS 1998) pro pozdne kvetoucí typ *Odontites vernus* subsp. *serotinus* (KUBÁT 2000). Údaje pro diploidy byly zatím převzaty pouze ze zahraniční literatury (KUBÁT 2000).

V České republice byly nedávno nalezeny populace, které morfologicky odpovídají pozdnímu typu, *Odontites vernus* subsp. *serotinus*, ale jsou tetraploidní ($2n = 40$). Oba pozdne kvetoucí cytotypy jsou si velmi podobné, na první pohled od sebe morfologicky nerozeznatelné. Úkolem mé studie je zjistit, jaké vztahy jsou mezi těmito cytotypy, jaké je jejich rozšíření a pokusit se najít morfologické znaky, kterými se odlišují.

Tabulka č.1: Přehled pojetí *Odontites vernus* agg. a udávaných znaků
legenda: x = autor údaj neudává

autor	taxon	taxon	délka lodyhy [cm]	počet větví	počet interkalárních článků	délka listenu [mm]	délka koruny [mm]	doba květu	ekologie	2n
Rottgardt 1956	<i>O. rubra</i> Gilib.	subsp. <i>verna</i> Hayek	x	x	x	x	1,08	x	obilná pole	40
		subsp. <i>litoralis</i> Hayek	x	x	x	x	1,08	x	slaniska	20
		subsp. <i>serotina</i> Hayek	x	x	x	x	1,93	x	záplavové území	20
Schneider 1964	<i>O. verna</i> (Bellardi) Dumort.		9-25	x	1	x		časné	obilná pole	40
		subsp. <i>litoralis</i>	5-20	x	1	x		VI-VII	slaniska	20
		subsp. <i>rothmaleri</i> Schneider	do 30	x	1(-2)	listeny delší než květy	x	VII-VIII	louky, pastviny	20
		subsp. <i>pumila</i> (Nordst.) Schneider	5-15	3-4	3-7	listeny kratší než květy	x	VII-IX	slaniska	20
		subsp. <i>rubra</i>	15-35	x	4-8(-10)	listeny kratší než květy	x	VII-IX	mokrě oblasti	20
Webb & Camarasa 1972	<i>O. verna</i> (Bellardi) Dumort.	subsp. <i>verna</i>	10-30	x	1	10-15(20)	x	časné	louky, pastviny, podél silnic, pole, narušená místa	40
		subsp. <i>serotina</i>	20-50	x	2-4	7-10	x	pozdní	louky, pastviny, podél silnic, pole, narušená místa	20
		subsp. <i>litoralis</i> (Fries) Nyman	10 - 35	x	1-2	8-20	x	časné	slaniska	20
Hartl 1974	<i>O. rubra</i> (Baumg.) Opiz	subsp. <i>rubra</i>	15-35(-50)	x	3-7(-9)	listeny kratší než květy	x	VII-IX	suché a vlhké pastviny, břehy rybníků	20
		subsp. <i>pumila</i> (Nordst.) Schneider	5-15	x	3-7	listeny kratší než květy	x	VII-IX	louky a pastviny, slaniska, mořské pobřeží	20
		subsp. <i>rothmaleri</i> Schneider	30	x	1(-2)	listeny delší než květy	x	VII-VIII	suché a vlhké pastviny, břehy rybníků	20
		subsp. <i>litoralis</i> (Fries) Hartl, comb. nov	5-20	x	1	x	x	V-VII	mořské pobřeží, slaniska	20
		subsp. <i>verna</i> (Bell.) Vollmann	9-25	x	1	x	x	V-VI(VII)	obilná pole	40

autor	taxon	taxon	délka lodyhy [cm]	počet větví	počet interkalárních článků	délka listenu [mm]	délka koruny [mm]	doba květu	ekologie	2n
Snogerup 1983	<i>O. verna</i> (Bellardi) Dumort.		10-25	1-4	1; vzácně 2	listeny často delší než květy	x	15.6.-30.7.	orná půda, obilná pole	40
	<i>O. vulgaris</i> Moench		15-50	1-8	4-8	listeny často kratší než květy	x	10.7.-30.9.	pole, podél cest, pastviny, louky, slaniska	18
	<i>O. litoralis</i> Fries	subsp. <i>litoralis</i>	5-20	1-3	1; vzácně 2	listeny stejně dlouhé, nebo delší než květy	x	15.6.-30.7.	slaniska, pobřeží brakických vod, šterkovité a skalnaté pobřeží	18
		subsp. <i>fennica</i> Marklund.	18-50	0-6	1; vzácně 2-3	listeny často delší než květy	x	10.7.-15.8.	pobřeží brakických vod, šterkovité a skalnaté pobřeží	18
Michalková 1997	<i>O. vernus</i> (Bellardi) Dumort.		(15-)30-45(-54)	1-4	(1-)2-4(-5)	9-15(-20)	9-11	VII-VIII (-IX)	vzácně na polích, úhorech, sekundárně v lučních porostech na hrázi vodního toku	40
	<i>O. vulgaris</i> Moench		30-60(-100)	(4-)9-13(-16)	(2-)3-5(-6)	5-7(-8)	5-7	VIII-IX(-X)	ruderalní stanoviště, méně častý na loukách, pasekách, podél lesních cest, podél železnice	18
*Kubát 2000 (**Kubát 2002)		subsp. <i>vernus</i>	10-30(-40)	1-4(-6)	1-2(-3)	8-13	9-10	VI-VII(-IX) * VI-VII **	obilná pole, mladé úhory, čerstvě vlhké, jílovité i hlinito zásadité až kyselé půdy	40
	<i>O. vernus</i> (Bellardi) Dumort.	subsp. <i>serotinus</i> (Dumort.) Corb.	15-40(-50)	3-12	(3-)4-8	5-13	5-7	VII - X	pastviny a jiné krátkostébelné, sešlapávané trávníky, travnaté lesní lemy, okraje cest, ruderalní stanoviště, jílovité půdy včetně slanisek, zaplavovaná místa podél řek	20 (extra fines)
Rothmaler 2005: pojetí převzato od Bolligera (Bolliger 1996)	<i>O. vernus</i> (Bellardi) Dumort.		10-25	1-4	1; vzácně 3	7,5-13	8,5-11	VI-VII	obilná pole, úhory	40
	<i>O. vulgaris</i> Moench		15-50	(1-)3-12	4-8	5-13	8-10	VI-IX	pastviny, trávníky, břehy rybníků a potoků, ruderalní stanoviště, okraje cest	18 (20)
		subsp. <i>litoralis</i>	5-20	0-3	1; vzácně 3	7,5-15	8	VII-VIII	slaniska, pobřeží brakických vod	18
	<i>O. litoralis</i> Fries	subsp. <i>fennica</i> Marklund.	15-40(-60)	2-4	1	10-25	7	VII-VIII	brakické břehy, šterkové a kamenité pobřeží	18
Fischer; Oswald, Adler 2008	<i>O. vernus</i> (Bellardi) Dumort.		10-30	x	1	listeny delší než květy	x	V-VII	obilní orná půda, slaniska	x
	<i>O. vulgaris</i> Moench		20-50	x	3-5(-8)	listeny kratší než květy	x	(VII)VIII-X	pastviny, ruderalní stanoviště	x

2 Cíl práce

Práce navazuje na projekt zahájeného během stáže G. Tuleu v roce 2009. Cílem bylo zjistit geografické rozšíření taxonů z okruhu *Odontites vernus* v České republice (střední Evropě) se zaměřením na nově nalezený tetraploidní pozdně kvetoucí *Odontites vernus* subsp. *serotinus* a pokusit se nalézt znaky, které tento cytotyp oddělují od druhého známého cytotypu, diploidního pozdně kvetoucího *Odontites vernus* subsp. *serotinus*.

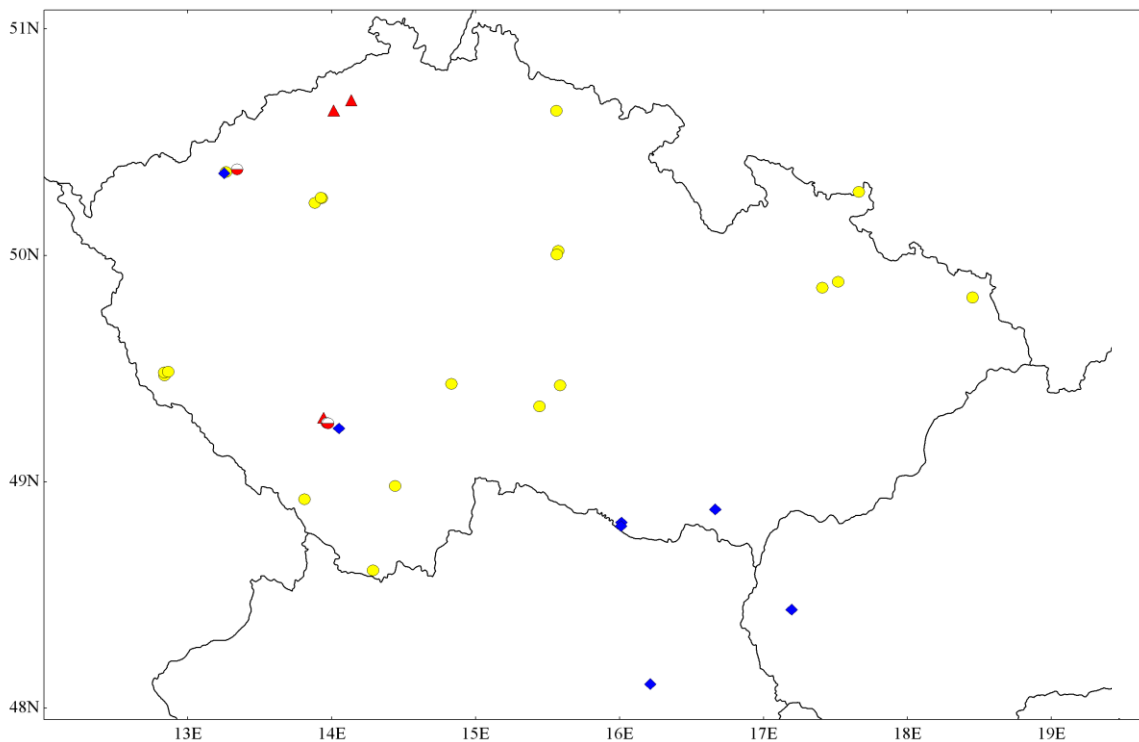
- Rešerše dosavadních znalostí (morfologie, chromozómové počty, vnitrodruhové taxony) o studovaném druhu a rámcově i o příbuzných druzích rodu
- Terénní průzkum *O. vernus* agg. v ČR, průtoková cytometrie, počítání chromozómů
- Morfometrická analýza, zaměřená zejména na odlišení nedávno rozeznávaných cytotypů v rámci *Odontites vernus* subsp. *serotinus*

3 Metodika

3.1 Sběr a zpracování materiálu

Sběr materiálu probíhal ve třech vegetačních obdobích v době květu studovaných rostlin. Časný typ *Odontites vernus* byl sbírán ve druhé polovině června (17. a 20. června), oba dva pozdní cytotypy byly sbírány přibližně od začátku srpna až do poloviny září.

Pro morfometrickou analýzu bylo použito 31 populací z České republiky, jedna ze Slovenska a jedna populace z Rakouska. Seznam lokalit je sepsán v příloze č.3 a graficky znázorněn pomocí programu DMap (obr. č.2).



Obrázek č.2: Lokality znázorněné na mapě střední Evropy

Legenda: ▲ časný 4x ● pozdní 2x ● šmišený 4x + 2x ◆ pozdní 4x

Celkem bylo sesbíráno 33 lokalit, které byly na základě doby kvetení (sezónního typu) a určení cytotypu rozděleny na 3 skupiny:

- 3 tetraploidní populace *Odontites vernus* subsp. *vernus*
- 20 diploidních populací *Odontites vernus* subsp. *serotinus*
- 10 tetraploidních populací *Odontites vernus* subsp. *serotinus*

Z každé populace bylo náhodně vybráno 10 až 20 jedinců, přičemž počty se lišily podle početnosti populace. U každé rostliny byla nejprve z čerstvého materiálu změřena ploidie pomocí cytometru. Poté byly měřeny úhly větví, počítány počty větví a článků. Dalším krokem bylo odebrání jednotlivých rostlinných částí na morfometrickou analýzu, tj. list pod větví, u níž byl měřen úhel, 5. listen a k němu příslušný květ (příloha č.4). Takto odebraný materiál byl pomocí průhledné pásky nalepen na papír do sešitu A5, naskenován v rozlišení 800 dpi (formát .tif). Získaná data byla upravena do formátu .tps v programu tpsUtil (ROHLF 2004) a měřena v programu tpsDig2 (ROHLF 2006).

Ze všech zde interpretovaných rostlin byly vytvořeny herbářové položky, které jsou k dispozici pro případnou revizi v herbáři CBFS.

3.2 Průtoková cytometrie

Pro stanovení stupně ploidie byl použit průtokový cytometr Partec PA II (Partec GmbH, Münster, Německo) v Laboratoři molekulární biologie rostlin na katedře botaniky PřF JU.

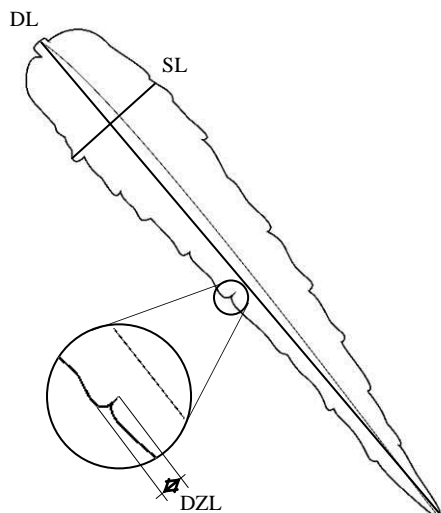
Všechny vzorky byly připravovány podle dvoufázového protokolu používající Otto pufrů (OTTO I & OTTO II; DOLEŽEL ET AL. 2007).

Měření probíhalo z velké části po pěti rostlinách. Pokud nebylo možno vyloučit výskyt obou ploidii ve vzorku (např. kvůli určité míře endopolyploidie, která způsobuje, že i u diploidních rostlin se někdy objevuje slabší signál odpovídající tetraploidům), analýza byla provedena znovu s každým vzorkem zvlášť. Z každé rostliny byl odebrán jeden zdravý čerstvý list. Část listu byla vložena do Petriho misky s 0,5 ml chlazeného roztoku Otto I (0,1M kyselina citronová, 0,5% Tween 20) společně se standardem (sója, *Glycine max* 'Polanka'), v poměru 3:1. Následně byly listy v pufru důkladně nasekány žiletkou a suspenze přefiltrována do zkumavky přes 42 µm nylonovou tkaninu. Směs byla ponechána přibližně jednu minutu v pokojové teplotě. Dále byl do zkumavky přidán 1 ml roztoku Otto II [0,4M Na₂HPO₄·H₂O, 2-merkapt ethanol (2 µl/ml) a fluorochrom DAPI (4µg/ml)] a suspenze byla ponechána v pokojové teplotě asi jednu minutu. Po této době byla zkumavka vložena do cytometru. Relativní fluorescence G₀/G₁ jader standardu byla nastavena na kanálu 200 (na 1024-kanálové škále). Zaznamenána byla fluorescence celkem 3000–5000 jader.

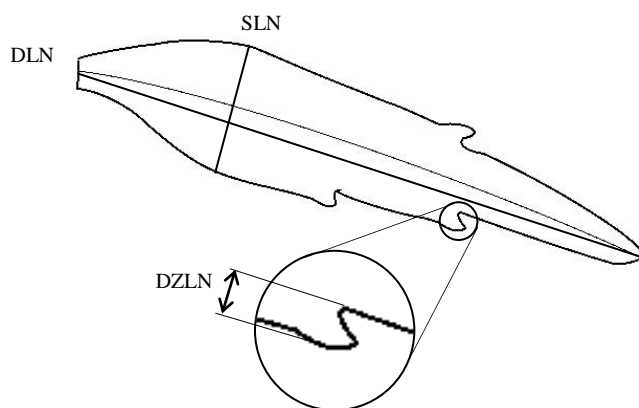
3.3 Morfometrická analýza

Na každé rostlině bylo měřeno 27 morfologických znaků (viz tabulka v příloze č.1). Znaky byly rozděleny do dvou skupin, kvantitativní a poměry, přičemž poměry byly spočteny ze získaných znaků. Znaky, které byly měřeny, byly vybrány převážně z literatury s přihlédnutím na sezónní variabilitu a klíčové znaky mezi oběma poddruhy vyskytující se v České republice. Některé znaky byly vybrány na základě vlastních terénních zkušeností, např. délka horního a dolního kališního cípu.

Po prvním zanalyzování bylo odebráno 6 znaků, které u rostlin z velké části nebylo možné zjistit, vykazovaly vysokou korelaci nebo nízkou variabilitu (v tabulkách jsou znaky zvýrazněny: SDK, SP, VL, D2, PCLC a DVD). Seznam všech měřených znaků je uveden v tabulkách č. 2-7. Znaky jsou zobrazeny v obrázcích č. 3-7. (list, listen, kalich, koruna, prašník). Získaná data z programu tpsDig2 byla převedena do excelu a následně vyhodnocena ve třech programech: Statistica 9 (StatSoft 2011), Canoco for Windows 4.5 (TER BRAAK & ŠMILAUER 2002) a R 2.11 (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2010).



Obrázek č.3: Kvantitativní znaky měřené na listech



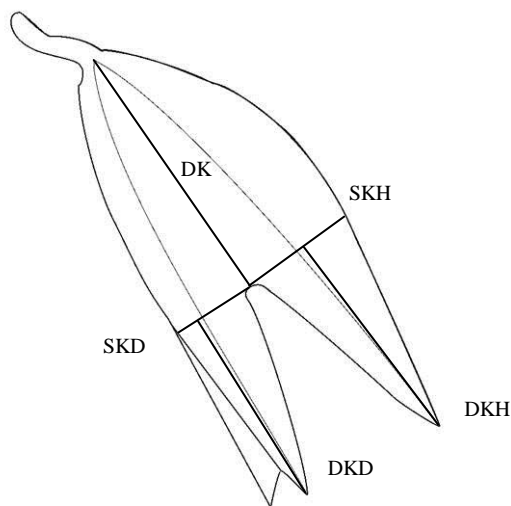
Obrázek č.4: Kvantitativní znaky měřené na listenech

Tabulka č.2: Znaky na listech

Zkratka znaku	Popis
DL	délka listu (cm)
SL	šířka listu (cm)
DZL	délka zubu na listu (cm)

Tabulka č.3: Znaky na listenech

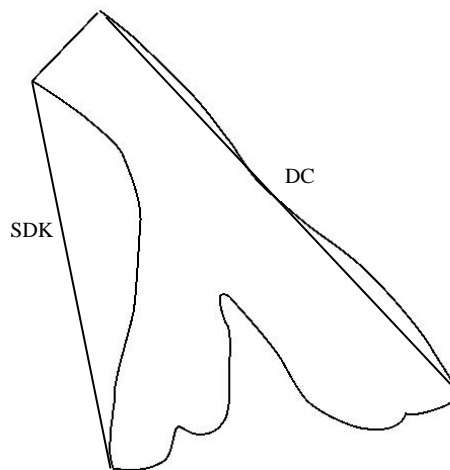
Zkratka znaku	Popis
DLN	délka listenu (cm)
SLN	šířka listenu (cm)
DZLN	délka zubu listen (cm)



Obrázek č.5: Kvantitativní znaky měřené na kalichu

Tabulka č.4: Znaky na kalichu

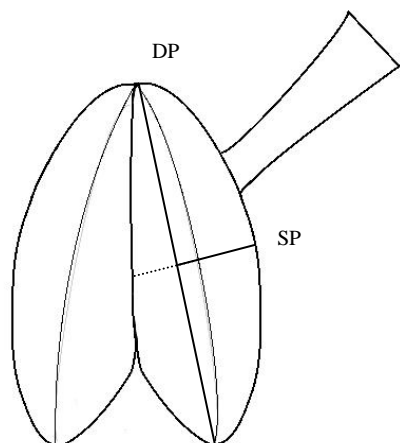
Zkratka znaku	Popis
SKH	šířka kališního horního cípu (cm)
DKH	délka kališního horního cípu (cm)
DK	délka kališní trubky (cm)
DKD	délka kališního dolního cípu (cm)
SKD	šířka kališního dolního cípu (cm)
DKC =DK +DKH	součet délky kališní trubky a horního kališního cípu (cm)



Obrázek č.6: Kvantitativní znaky měřené na koruně

Tabulka č.5: Znaky na koruně

Zkratka znaku	Popis
SDK	délka koruny spodní linie (cm)
DC	délka koruny (cm)



Obrázek č.7: Kvantitativní znaky měřené na prašníku

Tabulka č.6: Znaky na prašníku

Zkratka znaku	Popis
SP	šířka prašníku (cm)
DP	délka prašníku (cm)

Tabulka č.7: Měřené znaky na celé rostlině a poměry znaků

Zkratka znaku	Popis
<i>kvantitativní znaky</i>	
VL	větev, ze které byl sbírán list
ZL	počet zubů na listu
ZLN	počet zubů na listenu
PV	počet fertálních větví
U	úhel odstávající větve ku stonku (stupně)
PCL	celkový počet článků
PICL	počet interkalárních článků
D1	délka od kořene po první spodní vyvinutou větev (cm)
D2	délka stonku s vyvinutými větvemi (cm)
D3	délka od nejsvrchnější vyvinuté větve po poslední květ (cm)
D	celková délka lodyhy (cm)
DPV	délka nejdelší postranní větve (cm)
<i>poměry</i>	
DSL	poměr délky a šířky listu (DL / SL)
DSLN	poměr délky a šířky listenu (DLN / SLN)
DSKH	poměr délky a šířky horního kališního cípu (DKH / SKH)
DSKD	poměr délky a šířky dolního kališního cípu (DKD / SKD)
DCK	poměr délky koruny a celkové délky kalicha (DC / DKC)
PCLC	poměr celkového počtu článků a počtu interkalárních článků
DVD	poměr délky nejdelší postranní větve a celkové délky lodyhy

Vzhledem k tomu, že některé použité statistické metody vyžadují normalitu dat, některé vybrané znaky musely být logaritmicky transformovány.

Podle času sběru populací a ploidie bylo navrženo rozdělení populací do 3 skupin, které se dále barevně promítaly do analýz (časný tetraploid, pozdní tetraploid a pozdní diploid).

Jako první byla použita metoda analýza hlavních komponent (PCA, *principal component analysis*) na průměrech pro jednotlivé populace se všemi vybranými znaky. Hodnoty znaků byly pro analýzu standardizovány tak, aby měly nulový průměr a jednotkovou varianci. Dále byla počítána PCA na jednotlivých jedincích opět se všemi vybranými znaky, v ordinačním diagramu byly odlišeny stejné skupiny jako v případě populačních průměrů.

Jako druhá byla počítána kanonická diskriminační analýza (CDA; *canonical discriminant analysis*) a klasifikační diskriminační analýza (K.d.a; *classification d.a.*).

U CDA byl testován zejména význam jednotlivých znaků pro oddělení jednotlivých skupin – byl použit postupný výběr (*forward selection*) s neparametrickým Monte Carlo permutačním testem v programu Canoco for Windows. Poslední metodou byla klasifikační diskriminační analýza založená na pravděpodobnostech, která určila míru odlišení jednotlivých skupin (resp. počet případů, kdy byl jedinec správně / chybně klasifikován). Testování probíhalo v programu R 2.11 s využitím funkce *lda* v balíku MASS.

3.4 Chromozómové počty

Chromozómy byly počítány z apikálního růstového kořenového meristému semenáčku. Semeno bylo umístěno do Petriho misky na vlhký filtrační papír a ponecháno při teplotě 4 °C po dobu 6 týdnů, aby začalo klíčit. Poté byly semenáčky při pokojové teplotě ponořeny na 3 hodiny do nasyceného roztoku p-dichlorobenzenu. Dále byly fixovány v roztoku ethanolu a kyseliny octové v poměru (3:1) po 24 hodin při teplotě 4 °C a poté skladovány v 70 % ethanolu při teplotě 4 °C. Barvení rostlinné tkáně trvalo přibližně 3-5 minut ve směsi ethanolu a koncentrované kyseliny chlorovodíkové (1:1). Apikální část kořene byla uříznuta žiletkou a rozmačkána pomocí čtverečku z celofánu a ponechána jednu hodinu v 10 % Giemsa-Romanowskiho roztoku v 0,2M fosforečnanu sodném (pH 7,2).

Semena byla sbírána na dvou lokalitách, Drásov a Tatinná. Z každé populace se dalo naklíčit více semen. Použita byla pouze 3 semena na populaci. U každého vzorku byly studovány alespoň dvě mitózy.

4. Výsledky

4.1 Stanovení DNA ploidní úrovně

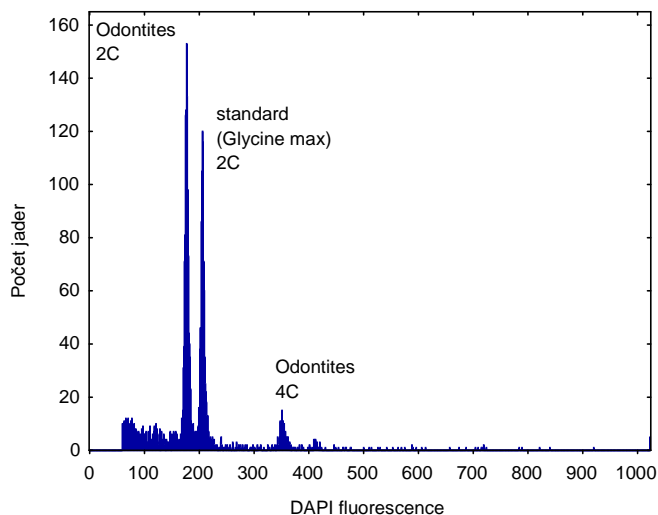
Analyzováno bylo 33 populací. Jedná se o stejné populace, které byly zařazeny do morfometrické analýzy: 3 populace časných tetraploidů (*Odontites vernus* subsp. *vernus*), 20 populací pozdních diploidů (*Odontites vernus* subsp. *serotinus*) a 10 populací pozdních tetraploidních rostlin (*Odontites vernus* subsp. *serotinus*). Výsledné ploidie jsou uvedeny v tabulce č.8.

U poslední skupiny, pozdních tetraploidů, byli ve 3 populacích nalezeni v menším počtu diploidní jedinci. Jedná se o populace Modlešovice Z (poměr tetraploidů a diploidů 22:8), Modlešovice S (poměr tetraploidů a diploidů 12:1) a Tušimice (poměr tetraploidů a diploidů 14:3). Do tabulky byly zaznamenány jako směsné populace. S tímto rozdělením se dále počítalo v morfometrické analýze, přičemž směsné populace byly rozděleny na dvě subpopulace podle získaného cytotypu.

Výsledkem jsou tedy pouze dvě ploidní úrovně (obr. č.8-10). Nebyl rozpoznán žádný triploidní (hybridní) jedinec.

Tabulka č.8: Seznam všech měřených populací s příslušnou ploidií

Populace	Zkratka populace	Ploidie	Počet jedinců 4x/2x	Populace	Zkratka populace	Ploidie	Počet jedinců 2x/4x
<i>Odontites vernus</i> subsp. <i>vernus</i>				<i>Odontites vernus</i> subsp. <i>serotinus</i>			
Hostovice	Host	4x	15/0	Brloh	Brloh	2x	18/0
Mašovice	Mas	4x	5/0	České Budějovice	CB	2x	20/0
Řepice	Rep	4x	12/0	Dětrichov	Detrich	2x	14/0
				Hlinka	Hlinka	2x	14/0
				Horní Suchá	HorSu	2x	15/0
				Chýnov	Chynov	2x	16/0
				Jihlava	Jihlava	2x	17/0
				Lenora	Lenora	2x	17/0
				Líský 1	Lisky1	2x	5/0
				Líský 2	LiskyL	2x	20/0
				Otov	Otov	2x	15/0
				Pařezov	Parez	2x	16/0
				PařezovS	ParezS	2x	19/0
				Přelouč	Prelouc	2x	12/0
				Spělov	Spelov	2x	4/0
				Srbeč	Srbec	2x	11/0
				Úhošť louka	UhostL	2x	5/0
				Velký Roudný	VelkyR	2x	15/0
				Vyšší Brod	VB	2x	17/0
				Žalý	Zaly	2x	8/0

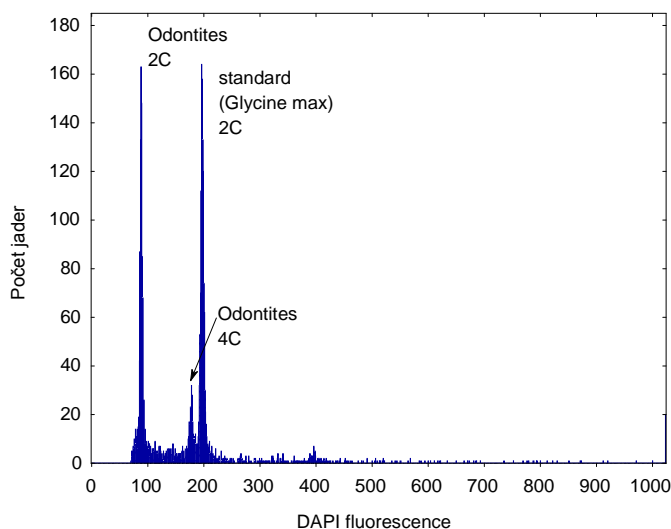


Obrázek č.8-10: Měření ploidie *Odontites vernus* agg. průtokovým cytometrem

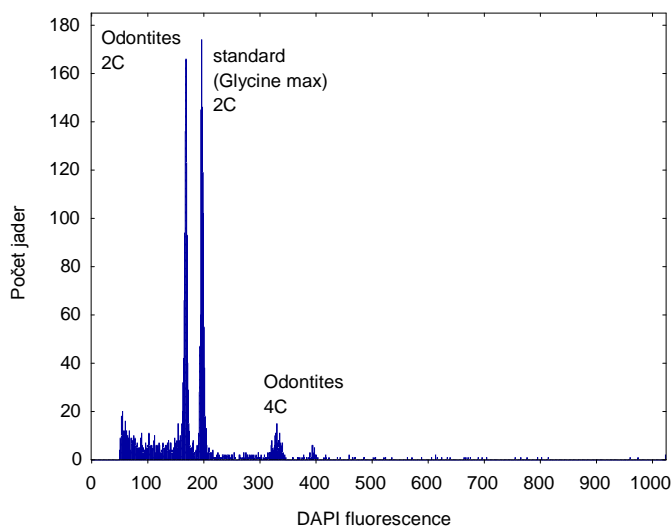
Na ose y je zaznamenán počet měřených jader. Na ose x je hodnota fluorescence, pomocí které byla stanovena úroveň ploidie. Jako standard byla použita sója (*Glycine max* 'Polanka'), umístěna při hladině fluorescence 200.

Diploidní pík vychází cca na hodnotu 90 fluorescence, a tetraploidní pík na hodnotu cca 180 fluorescence.

Obrázek č.8: Časně kvetoucí tetraploid *Odontites vernus* subsp. *vernus* (populace Řepice)



Obrázek č.9: Pozdně kvetoucí diploid *Odontites vernus* subsp. *serotinus* (populace Brloh)

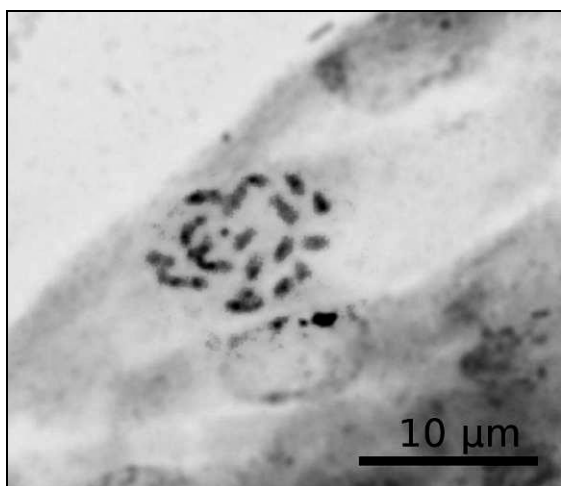


Obrázek č.10: Pozdně kvetoucí tetraploid *Odontites vernus* subsp. *serotinus* (populace Skalky)

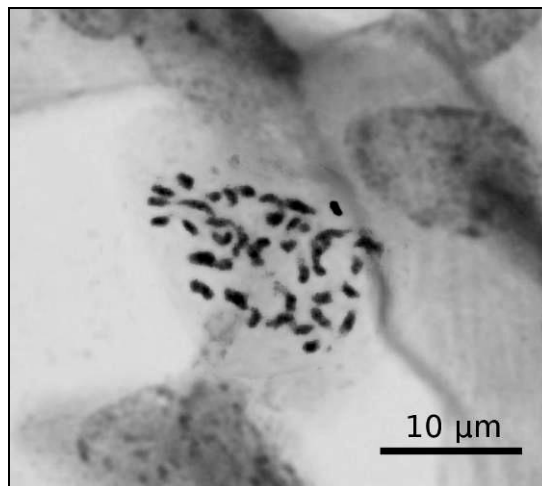
4.2 Chromozómové počty

Pro populaci pozdních diploidů Tatinná bylo spočteno 18 chromozómů ($2n = 2x = 18$). Výsledné počty jsou zobrazeny na mikroskopickém snímku (obr. č.11). Ve druhé populaci tetraploidů Drásov bylo napočítáno 40 chromozómů ($2n = 4x = 40$; obr. č.12).

Výsledné chromozómové hodnoty s obrázky byly použity do článku v Preslii (KOUTECKÝ ET AL. 2012).



Obrázek č.11: Diploid s 18 chromozómy z lokality Tatinná



Obrázek č.12: Tetraploid se 40 chromozómy z lokality Drásov

4.3 Morfometrická analýza

4.3.1. Měřené znaky

Nejprve byla překontrolována získaná data, zda mají všichni jedinci studované znaky. V některých případech chyběly listy, listeny, kalichy a nebo chybělo hlavní květenství (následek sečení, okusu). U jedinců bez květenství nebylo možné změřit délku květenství, celkovou délku rostliny a počet interkalárních článků. Takoví jedinci byli z analýz vyřazeni.

Měřené znaky byly rozděleny do dvou skupin. První skupinu tvořily kvantitativní znaky, druhou poměry znaků (viz Metodika).

Nejprve byly všechny znaky kontrolovány, zda mají normální rozdělení (vizuální vyhodnocení histogramů v programu Statistika). Hodnoty znaků D1, D2, D3, D, PV, DPV, DL, SLN, DSLN byly transformovány pomocí logaritmické funkce [$x' = \log(x+1)$].

Znaky VL, D2, SDK, SP byly z analýzy odebrány. Znak VL byl nevhodně vybrán, protože u většiny jedinců chyběl a D2 byl ve značné míře nevariabilní (zejména v rámci časných tetraploidů; uniformita znaku je problémem mimo jiné. pro diskriminační analýzy). Znaky SKD a SP byly u všech jedinců měřeny, ale po úvaze odstraněny, protože jejich hodnoty byly silně ovlivněny stavem a způsobem zpracování rostlinného materiálu.

Dále byla spočtena korelace mezi jednotlivými znaky. Protože data neodpovídala normálnímu rozdělení, byly použity neparametrické Spearmanovy korelační koeficienty (viz tabulka v příloze č.2). Znaky nejvíce korelované ($r \geq 0,5$) jsou v tabulce zvýrazněny.

U znaků PCLC a DVD byla zjištěna vysoká korelace ($r \geq 0,9$), a proto musely být z analýz vyřazeny.

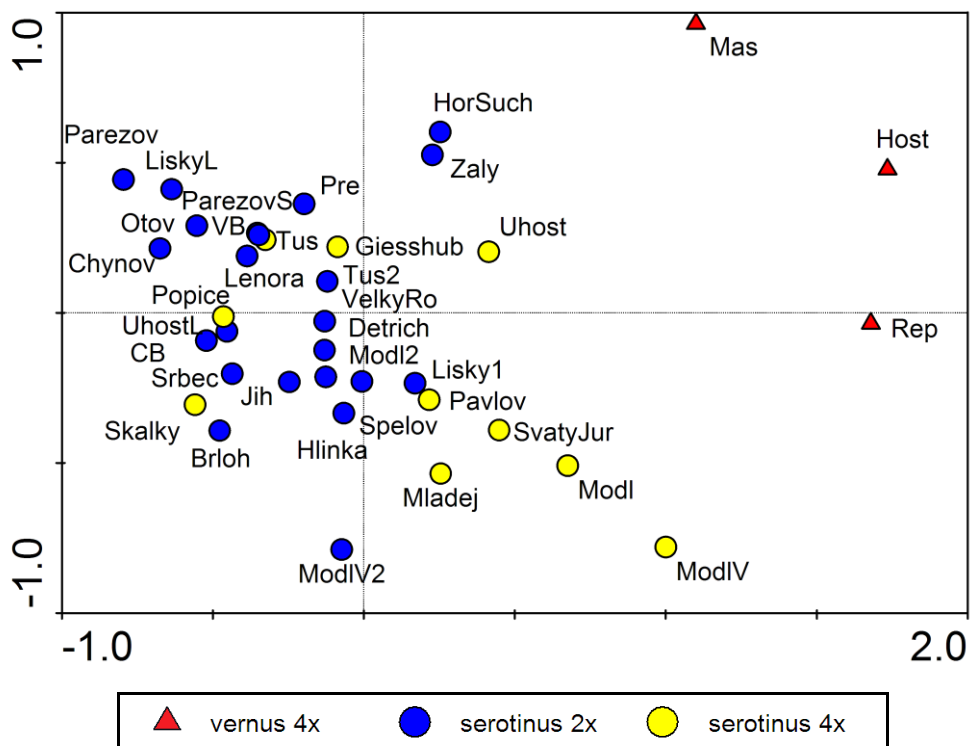
4.4. Statistické zpracování dat

4.4.1. Analýza hlavních komponent (PCA)

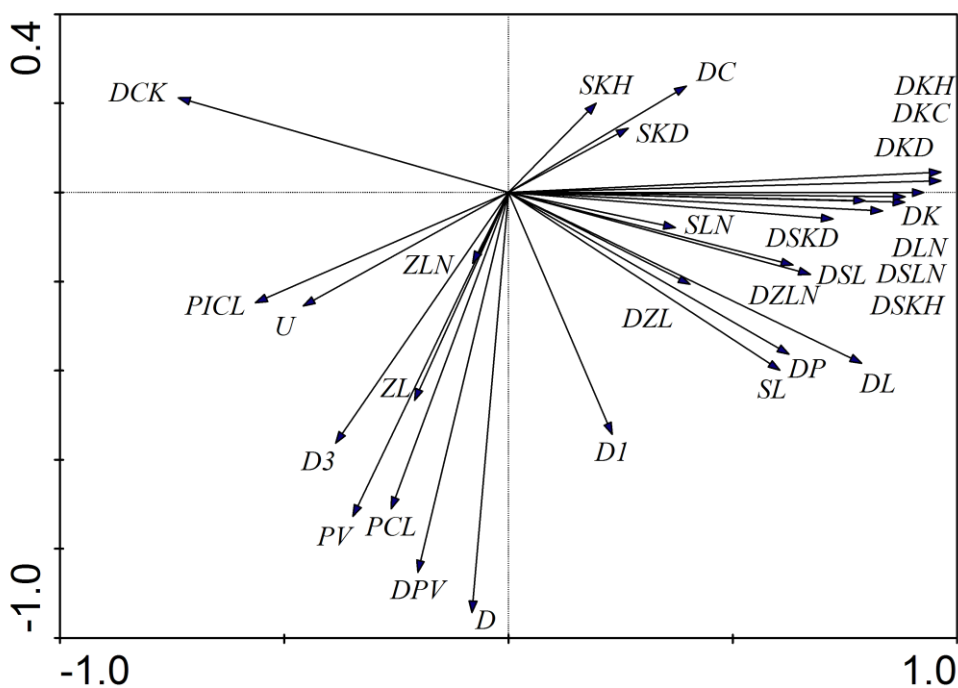
PCA byla hodnocena na 33 (+3) populacích a jedincích s kompletními znaky. Zkoumané populace byly rozděleny podle sezónnosti a ploidie do tří skupin (viz Metodika), které jsou v grafech barevně od sebe odlišeny. Analýza byla počítána několikrát, nejprve na hodnotách všech populačních průměrů se všemi znaky (obr. č.13 a obr. č.14), poté na všech jedincích se všemi společnými znaky (obr. č.15 a obr. č.16). Na ordinačních diagramech je vidět jasné oddělení jedné skupiny populací, časného tetraploidního typu *Odontites vernus* subsp. *vernus*, od všech ostatních populací.

Podle promítnutí všech vybraných měřených znaků PCA (obr. č.14 a obr. č.16) v prostoru je zřejmé, že skupina časných tetraploidů se oddělila na základě často interpretovaných sezónních znaků (viz Úvod). Jedná se o znaky: úhel odstávající větve ku stonku (U), celkový počet článků (PCL), počet interkalárních článků (PICL), počet větví (PV), celkový počet článků (PCL), znaky na kalichu (DK, DKD, DKC atd.).

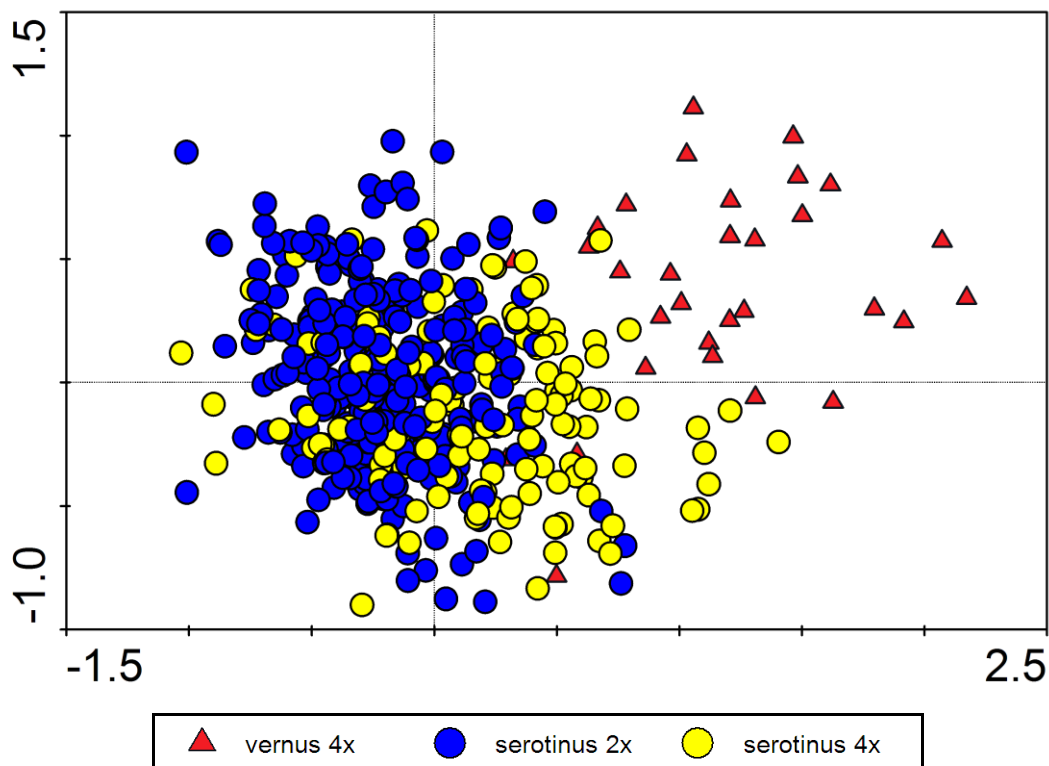
Protože rozdíl mezi časnými a pozdními populacemi tvoří většinu gradientu podél první ordinační osy a mohly by překrývat rozdíl mezi oběma pozdními cytotypy, byla následně zpracována analýza opět na populačních průměrech se všemi společnými znaky a na jedincích se všemi společnými znaky, avšak z analýzy byla vyřazena výše jasné oddělená skupina časných *Odontites vernus* subsp. *vernus*. Výsledkem jsou grafy PCA (obr. č.17-20), ve kterých také nelze rozpoznat výrazné oddělení cytotypů.



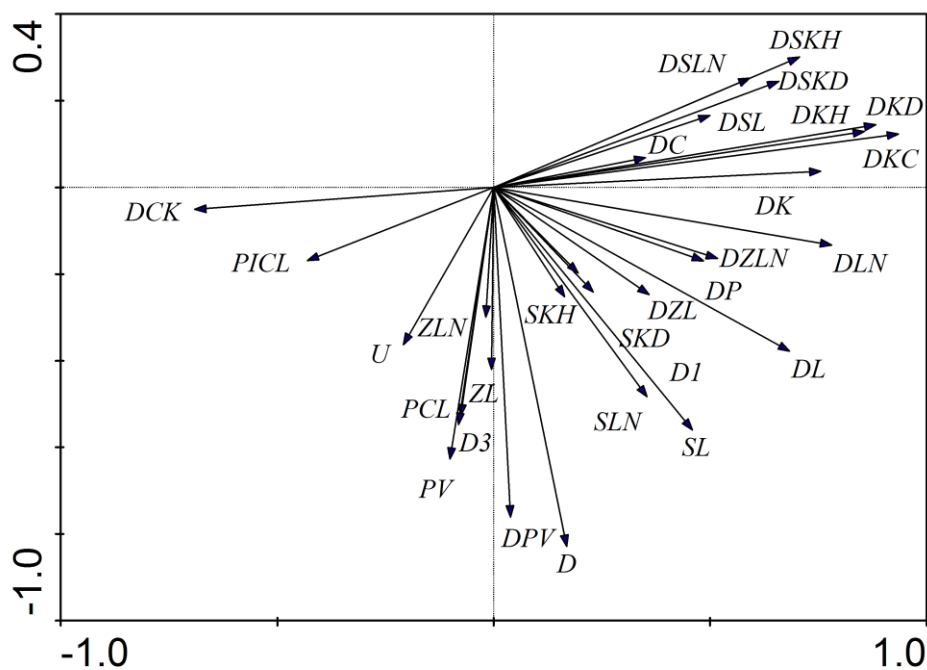
Obrázek č.13: PCA; Rozmístění všech populací na základě analýzy všech populací se všemi použitými znaky v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 36,3% a druhá 14,9%. První dvě osy vysvětlují 51,2% variability.



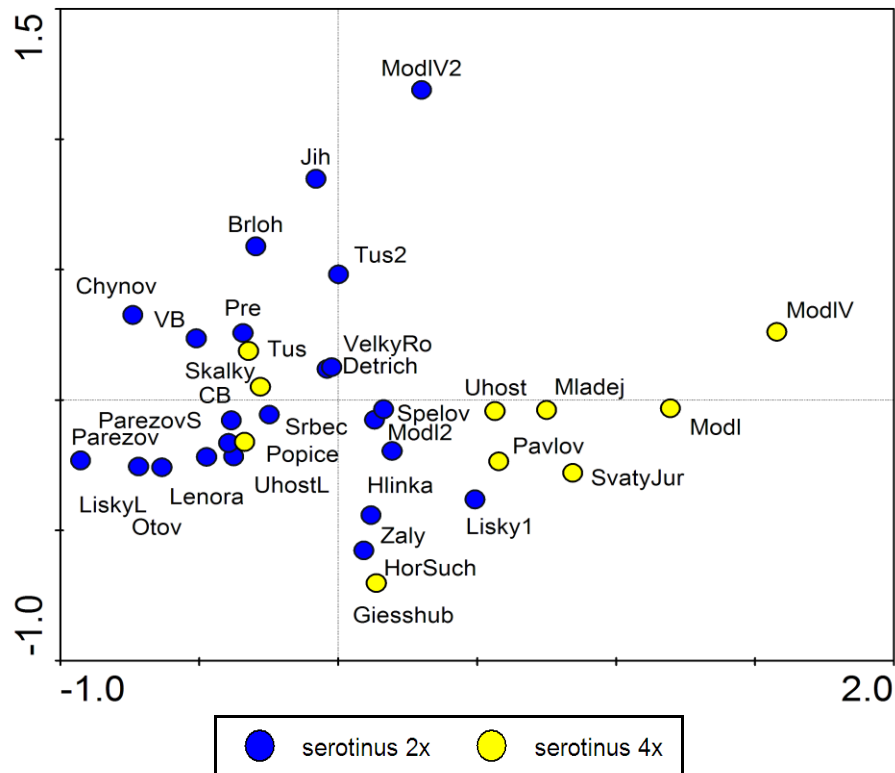
Obrázek č.14: Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 36,3% a druhá 14,9% variability.



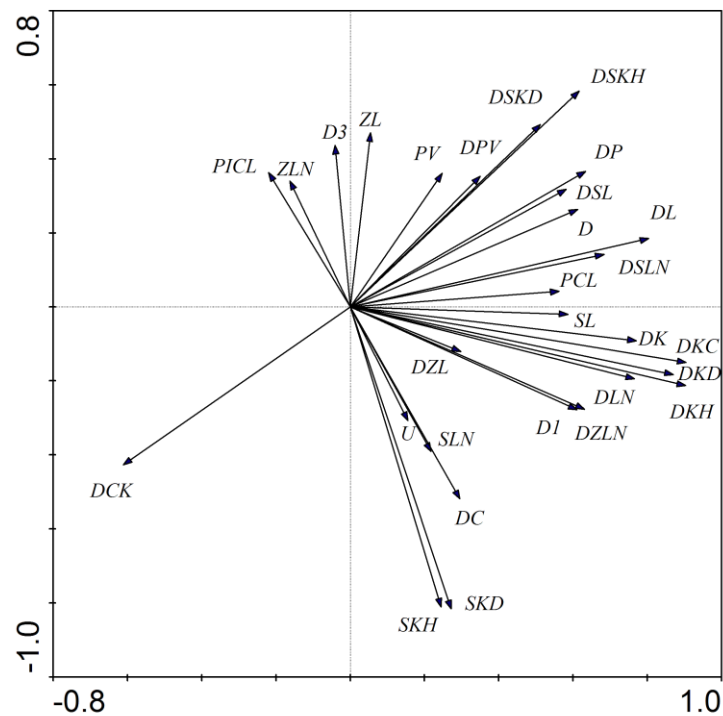
Obrázek č.15: PCA; Rozmístění všech jedinců na základě analýzy jednotlivých rostlin se všemi použitými znaky v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 26% a druhá 13,6%. První dvě osy vysvětlují 39,6% variability.



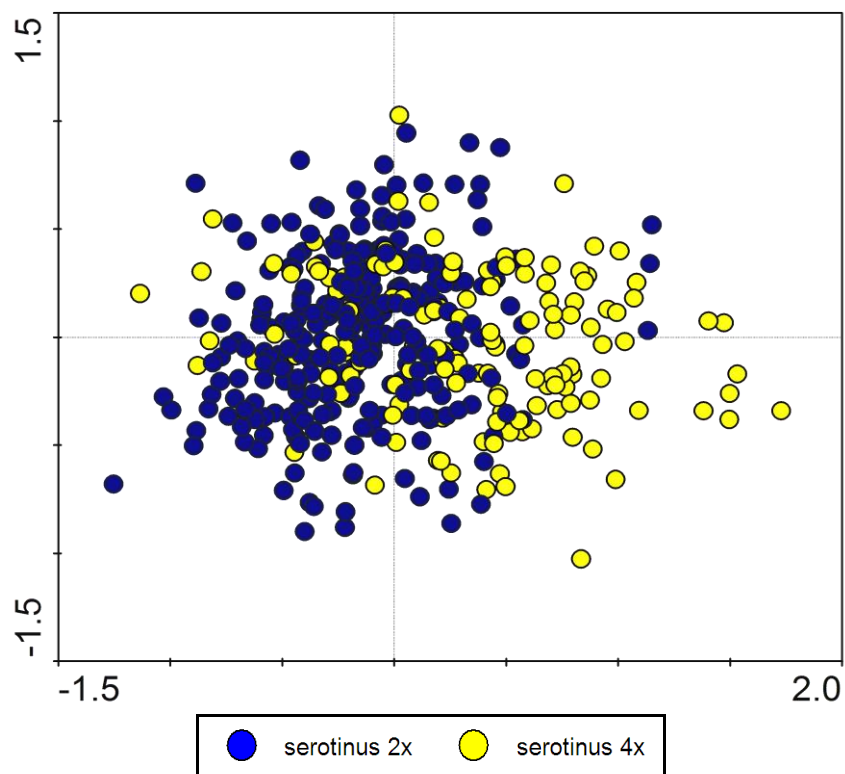
Obrázek č.16: PCA; Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 26% a druhá 13,6% variability.



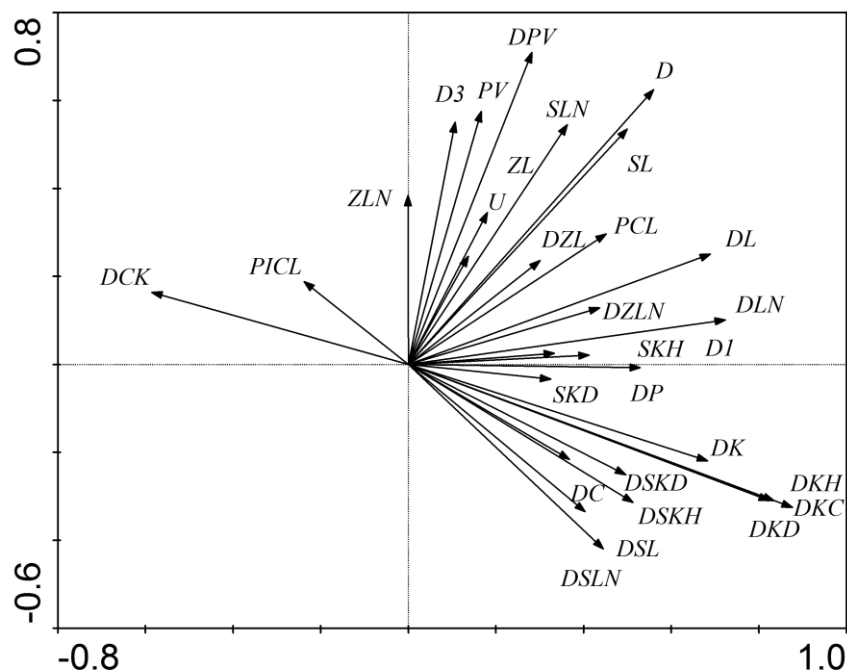
Obrázek č.17: PCA; Rozmístění populací na základě analýzy populací pozdních cytotypů se všemi použitými znaky v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 30,7% a druhá 14,5%. První dvě osy vysvětlují 45,2% variability.



Obrázek č.18: PCA; Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 30,7% a druhá 14,5% variability.



Obrázek č.19: PCA; Rozmístění jedinců na základě analýzy jedinců pozdních cytotypů se všemi použitými znaky v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 24,2% a druhá 12,4%. První dvě osy vysvětlují 36,6% variability.



Obrázek č.20: PCA; Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru. První ordinační osa vysvětluje 24,2% a druhá 12,4% variability.

4.4.2. Diskriminační analýza

Kanonická diskriminační analýza (CDA)

CDA byla nejprve spočítána na úrovni populací, které byly rozčleněny na základě doby květu a ploidy. Cílem bylo zjistit, jak moc se jednotlivé taxony od sebe morfologicky liší a jaké znaky mají na rozdělení největší vliv (obr. č.21 a 22).

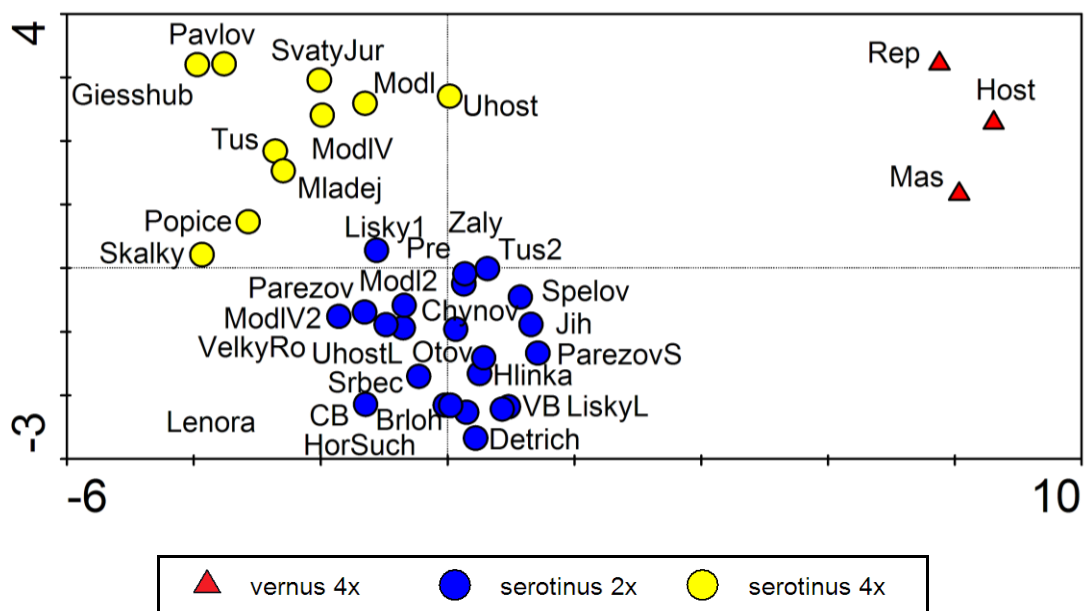
Význam znaků byl testován pomocí metody postupného výběru (*forward selection*) s využitím Monte Carlo permutačních testů.

Kanonická diskriminační analýza na průměrech populací prokázala, že se skupiny dají dobře od sebe odlišit. Znaky, které přispěly k rozdělení na 5% hladině významnosti, jsou: DKH, D, ZLN, ZL, U, DSLN a DSKH (tabulka č.9). Ostatní znaky neměly při postupném výběru průkazný vliv.

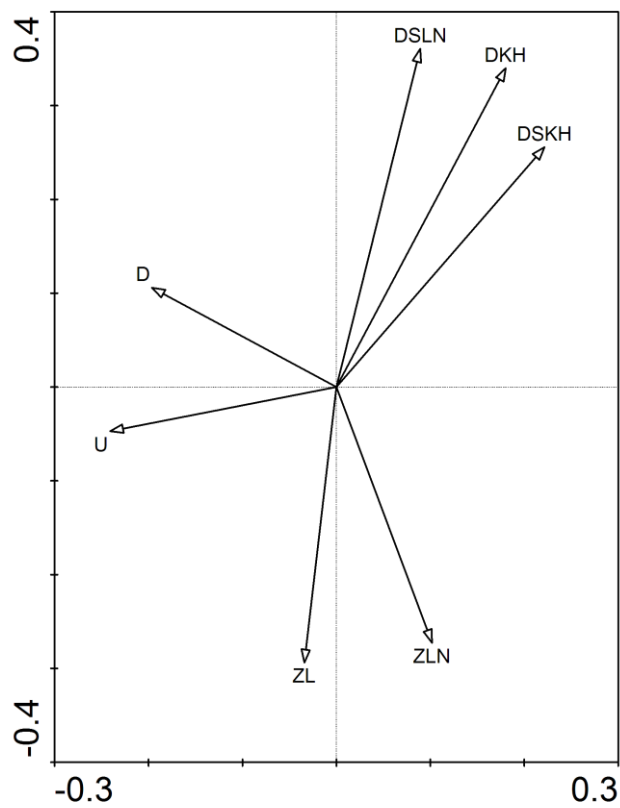
Podle osy x se vytvořily dvě skupiny. První skupinu tvoří oba pozdně kvetoucí cytotypy (2x, 4x), druhou skupinou je časně kvetoucí tetraploid (obr. č.21). Oddělení časně kvetoucího typu je hlavně na základě znaků DSLN, DKH a DSKH (obr. č.22). Podle druhé osy se odděluje pozdně kvetoucí diploidní typ a pozdně kvetoucí tetraploidní typ (přičemž časně kvetoucí tetraploidní typ má podél druhé osy podobné skóre; druhá ordinační osa tedy obecně odděluje diploidy od tetraploidů).

Tabulka č.9: CDA; Kanonické korelační koeficienty pouze pro průkazné znaky (testované na všech populacích)

Variable	Conditional Effects		
	LambdaA	P	F
DKH	0,66	0,001	16,76
D	0,33	0,001	10,87
ZLN	0,33	0,001	15,12
ZL	0,11	0,004	5,98
U	0,09	0,003	6,03
DSLN	0,07	0,01	4,91
DSKH	0,07	0,004	6,09



Obrázek č.21: CDA na úrovni populací s postupným výběrem (*forward selection*)



Obrázek č.22: Promítnutí 7 průkazných znaků v CDA prostoru

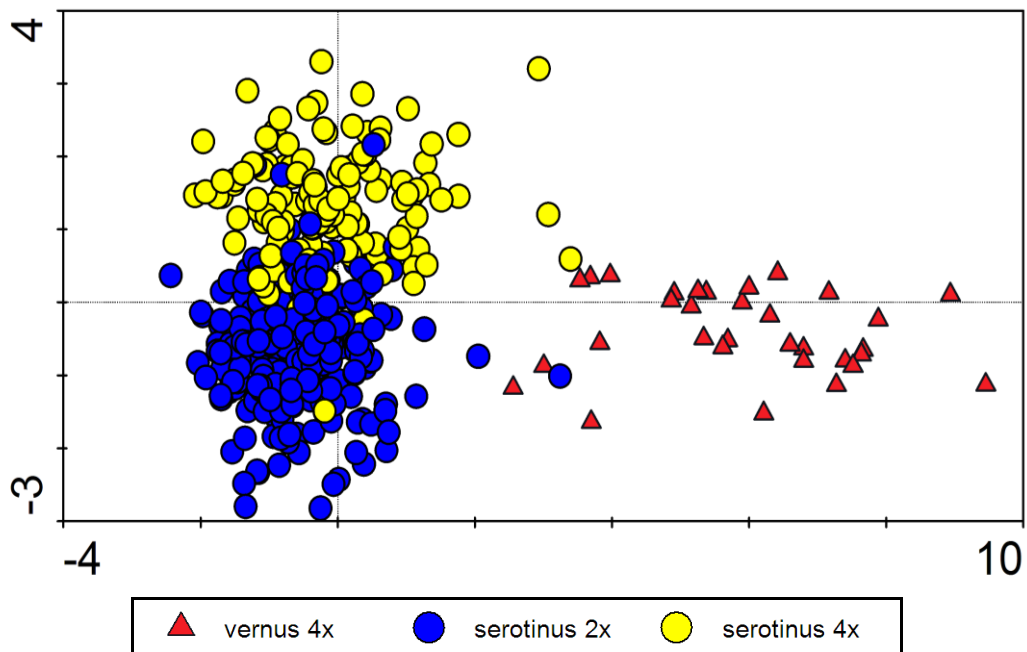
Druhá analýza CDA byla počítána na úrovni jedinců, kteří byli opět členěni do tří skupin podle fenologie a ploidie. I zde byly znaky testovány pomocí postupného výběru (*forward selection*) s využitím Monte Carlo permutačních testů (viz obr. č.23 a obr. č.24).

Podle první osy je výsledkem oddělení časně kvetoucích tetraploidů od druhé skupiny zahrnující pozdně kvetoucí diploidy a pozdně kvetoucího tetraploidy. Druhou osou bylo získáno oddělení obou pozdně kvetoucích cytotypů.

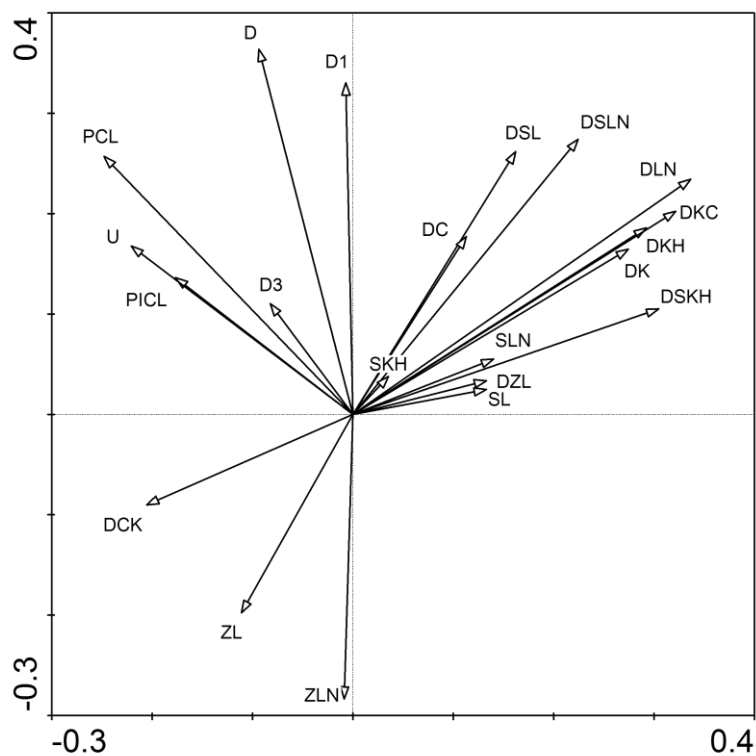
21 znaků bylo označeno za průkazné (tabulka č.10).

Tabulka č.10: CDA; Kanonické korelační koeficienty pouze pro průkazné znaky (testované na všech jedincích)

Variable	Conditional Effects		
	LambdaA	P	F
DLN	0,46	0,001	136,89
PCL	0,26	0,001	90,72
ZLN	0,14	0,001	58,34
U	0,08	0,001	35,18
DSKH	0,07	0,001	31,38
D	0,05	0,001	23,54
ZL	0,05	0,001	24,76
D3	0,04	0,001	21,53
DSL	0,03	0,001	17,46
PICL	0,03	0,001	13,15
D1	0,02	0,001	13,58
DSLN	0,01	0,001	7,53
SLN	0,01	0,001	7,66
SL	0,02	0,001	7,21
DK	0,01	0,014	4,28
DKH	0,01	0,02	3,98
SKH	0,02	0,001	15,34
DC	0,01	0,023	4,1
DCK	0,02	0,001	10,92
DKC	0,01	0,001	7,98
DZL	0,01	0,003	5,78



Obrázek č.23: CDA na úrovni jedinců s postupným výběrem (*forward selection*) znaků



Obrázek č.24: Promítnutí 21 průkazných znaků v CDA prostoru

Klasifikační diskriminační analýza

K.d.a. je metoda, která porovnává zadané rozdělení objektů do skupin s rozdělením vypočteným na základě ordinačního prostoru objektů. K.d.a byla počítána s *cross-validation* (vytvoření klasifikačních pravidel pro každou populaci na základě ostatních populací, ve druhém kroku je vybraná populace podle těchto pravidel zpětně ohodnocena) a s *a-priori* hodnotou pravděpodobností stejnou u každé skupiny.

K.d.a. byla počítána se všemi vybranými znaky na průměrech populací. Výsledné hodnoty jsou popsány v tabulce (tabulka č.11).

Tabulka č.11: Klasifikační diskriminační analýza populací

vern: *O. vernus* subsp. *vernus* (časný tetraploidní typ)

ser2: *O. vernus* subsp. *serotinus* (pozdní diploidní typ)

ser4: *O. vernus* subsp. *setotinus* (pozdní tetraploidní typ)

Taxon	Určeno jako			%správně
	vern	ser2	ser4	
vern	3	0	0	100,0
ser2	0	22	0	100,0
ser4	0	0	10	100,0
celkem	3	22	10	100,0

Tato metoda byla provedena také na všech zkoumaných jedincích. Výsledky jsou zobrazeny v tabulce č.12 a 13.

Tabulka č.12: Klasifikační diskriminační analýza jedinců

vern: *O. vernus* subsp. *vernus* (časný tetraploidní typ)

ser2: *O. vernus* subsp. *serotinus* (pozdní diploidní typ)

ser4: *O. vernus* subsp. *serotinus* (pozdní tetraploidní typ)

Taxon	Určeno jako			%správně
	vern	ser2	ser4	
vern	31	1	0	96,9
ser2	0	269	21	92,8
ser4	0	9	127	93,4
celkem	31	279	148	93,2

Tabulka č.13: Klasifikační diskriminační analýza jedinců – výsledky pro jednotlivé populace

vern: *O. vernus* subsp. *vesnus* (časný tetraploidní typ)

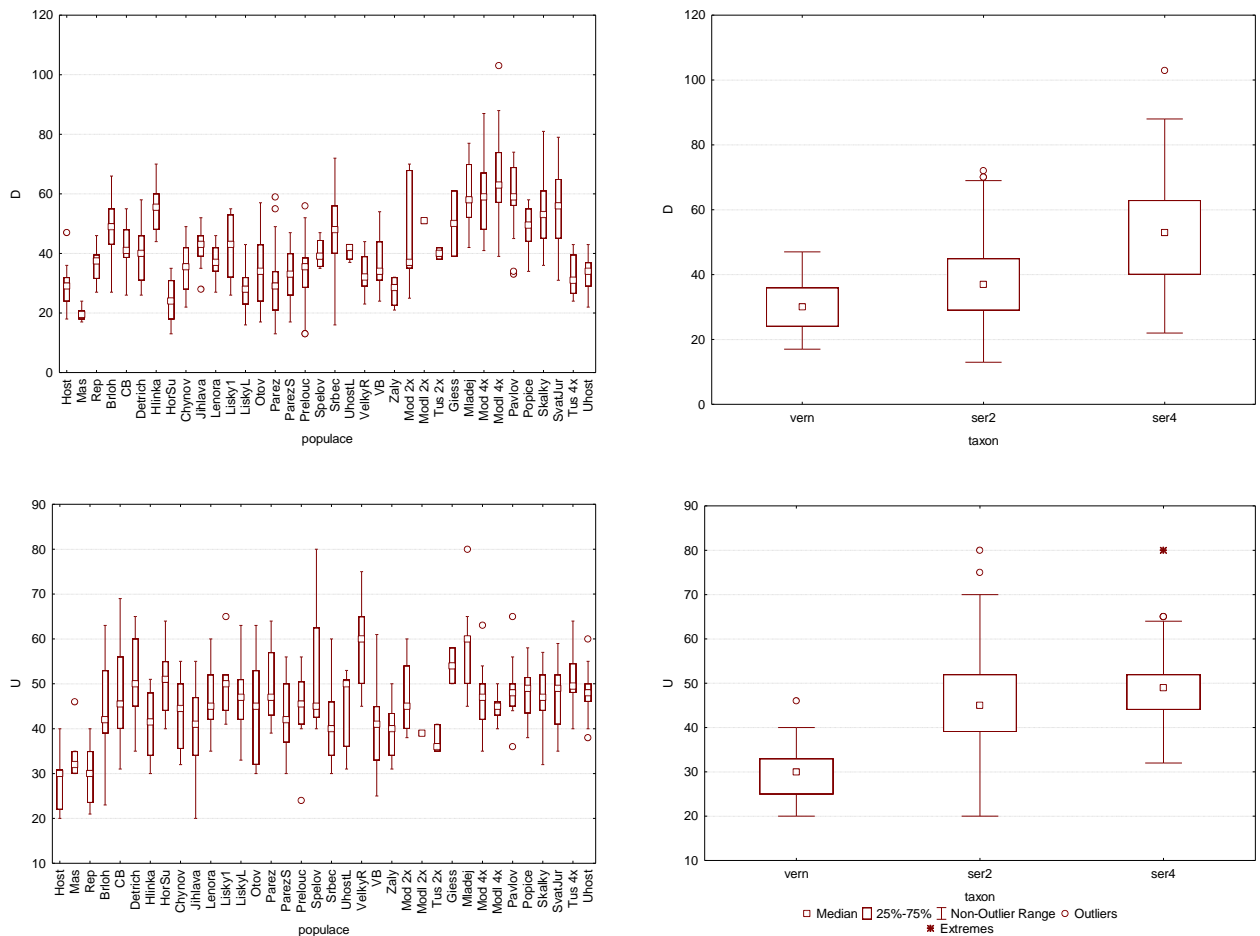
ser2: *O. vernus* subsp. *serotinus* (pozdní diploidní typ)

ser4: *O. vernus* subsp. *serotinus* (pozdní tetraploidní typ)

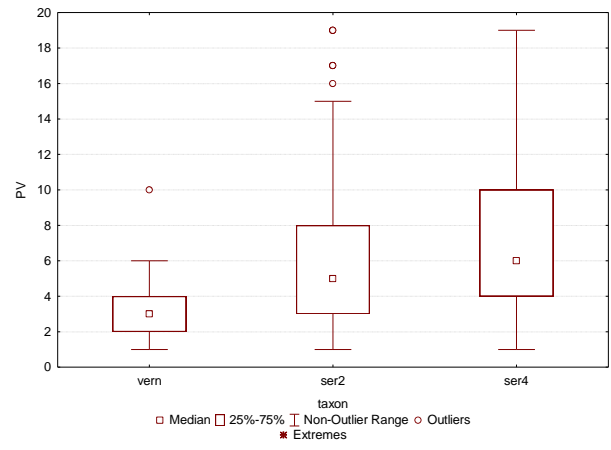
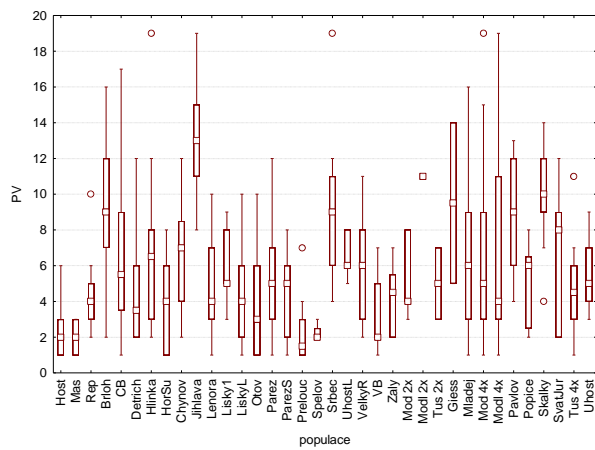
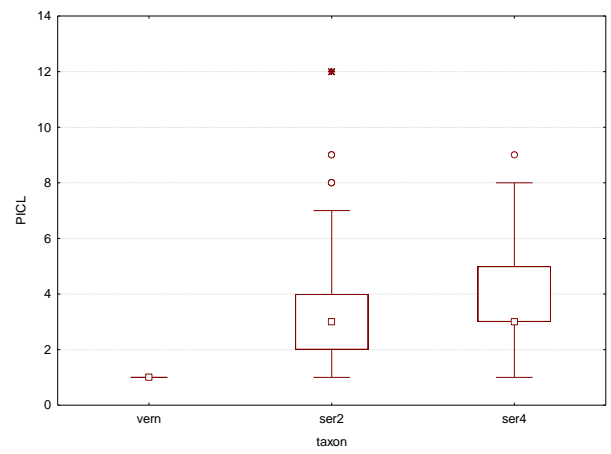
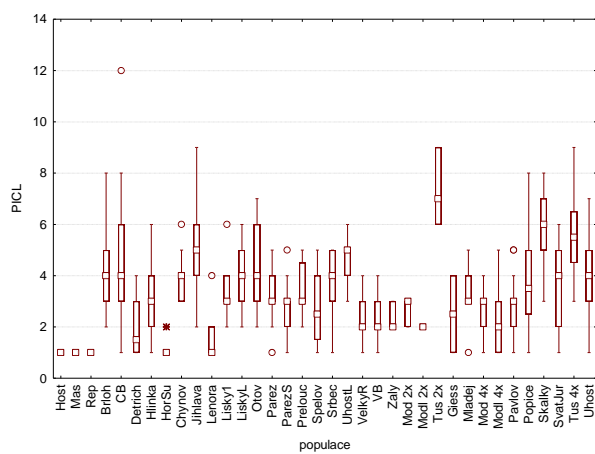
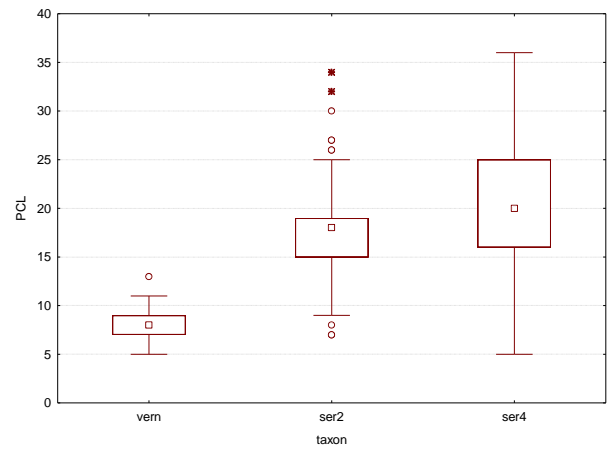
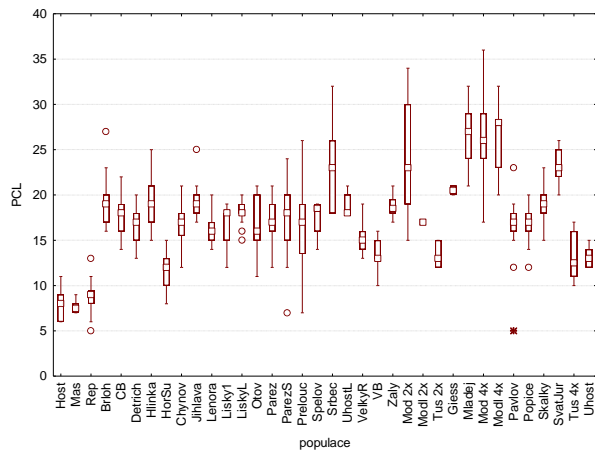
Populace	Taxon	vern	ser2	ser4	%správn
Brloh	ser2	0	18	0	100,0
CB	ser2	0	20	0	100,0
Detrich	ser2	0	14	0	100,0
Giess	ser4	0	0	2	100,0
Hlinka	ser2	0	12	2	85,7
HornSu	ser2	0	15	0	100,0
Host	vern	15	0	0	100,0
Chynov	ser2	0	15	1	93,8
Jihlava	ser2	0	17	0	100,0
Lenora	ser2	0	16	1	94,1
Lisky1	ser2	0	4	1	80,0
LiskyL	ser2	0	19	1	95,0
Mas	vern	4	1	0	80,0
Mladej	ser4	0	1	14	93,3
Mod	ser4	0	1	21	95,5
Mod2	ser2	0	6	2	75,0
Modl	ser4	0	0	12	100,0
Modl2	ser2	0	1	0	100,0
Otov	ser2	0	15	0	100,0
Parez	ser2	0	16	0	100,0
ParezS	ser2	0	19	0	100,0
Pavlov	ser4	0	0	13	100,0
Popice	ser4	0	4	10	71,4
Prelouc	ser2	0	9	3	75,0
Rep	vern	12	0	0	100,0
Skalky	ser4	0	2	16	88,9
Spelov	ser2	0	3	1	75,0
Srbec	ser2	0	11	0	100,0
SvatJur	ser4	0	0	9	100,0
Tus	ser4	0	1	13	92,9
Tus2	ser2	0	2	1	66,7
Uhost	ser4	0	0	17	100,0
UhostL	ser2	0	4	1	80,0
VB	ser2	0	16	1	94,1
VelkyR	ser2	0	13	2	86,7
Zaly	ser2	0	4	4	50,0

4.4.3. Popisná statistika

Znaky, které vyšly z diskriminační analýzy jako zásadní, výrazně podílející se na rozdělení do skupin, jsou graficky znázorněny v grafech popisné statistiky Box & Whiskers plot (obr. č.25-29).

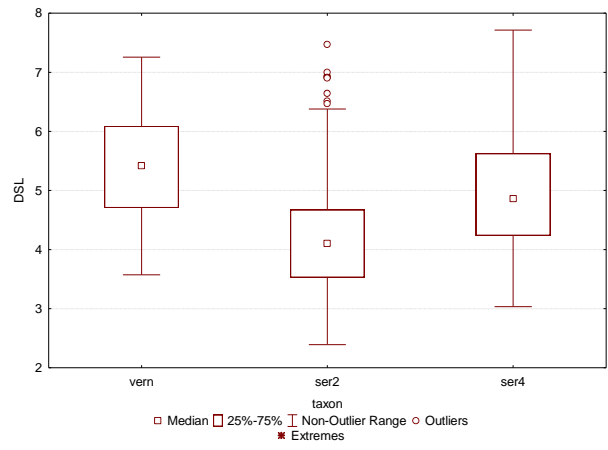
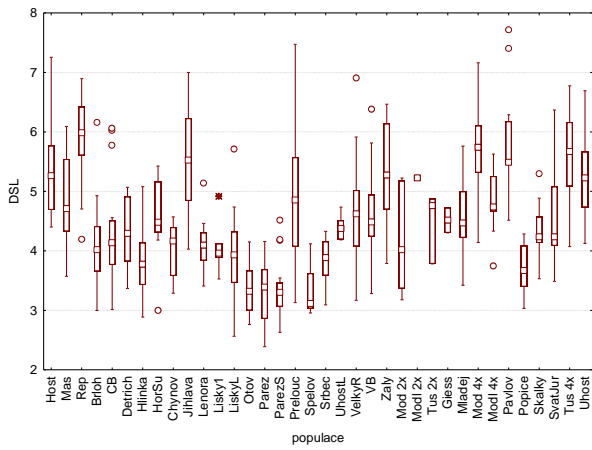
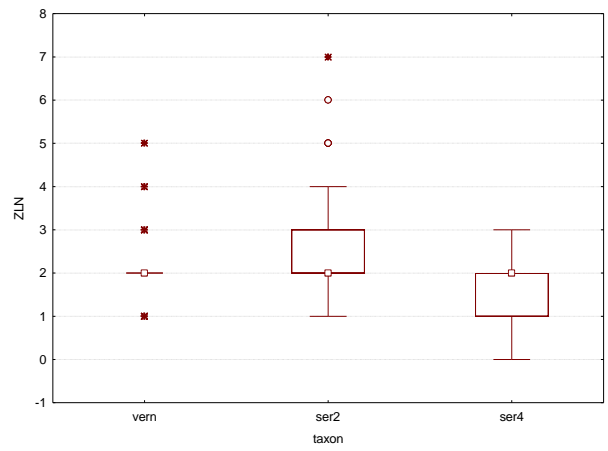
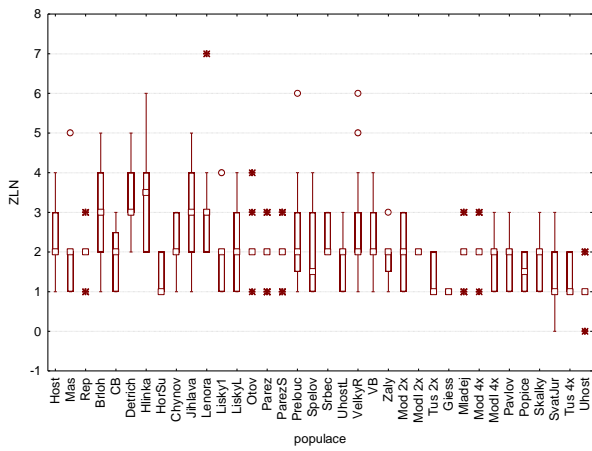
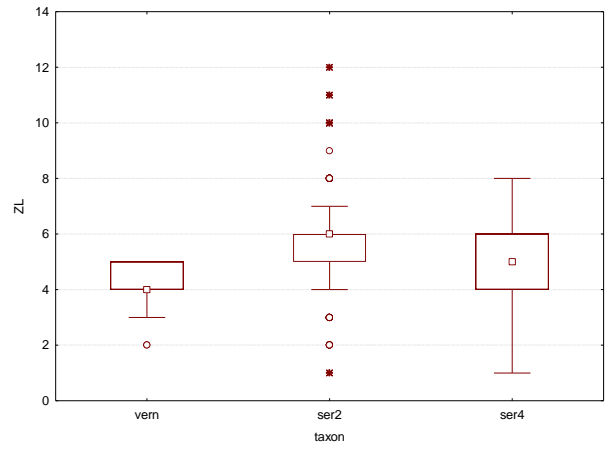
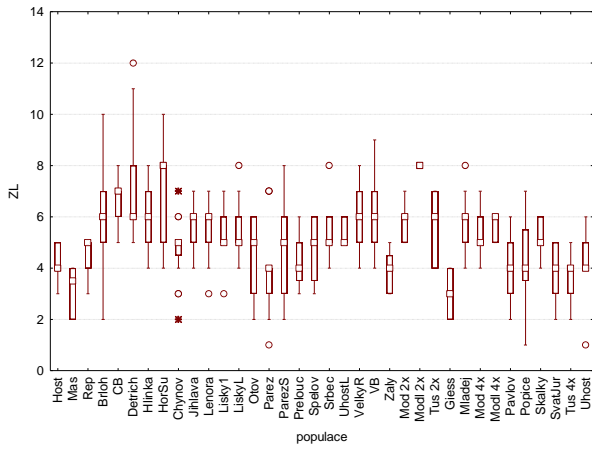


Obrázek č.25: Hodnoty znaků D, U pro jednotlivé populace a sezónní cytotypy



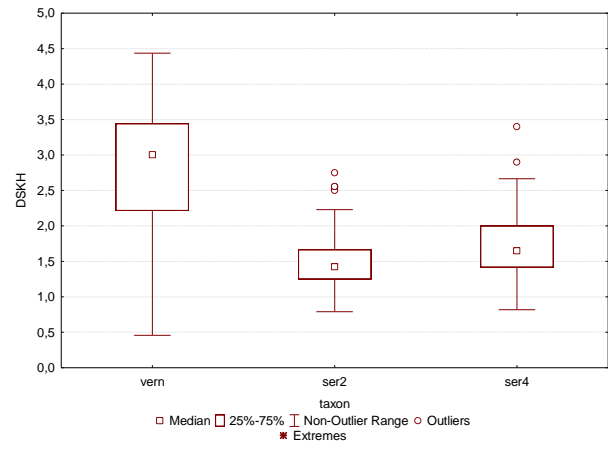
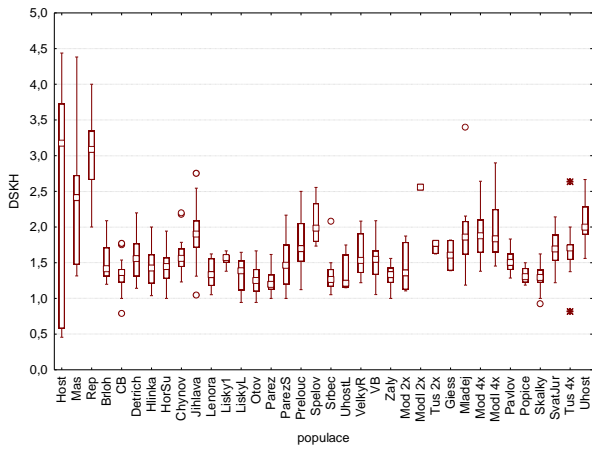
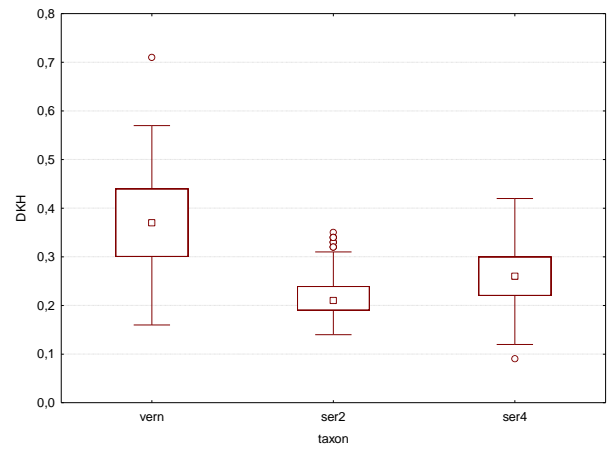
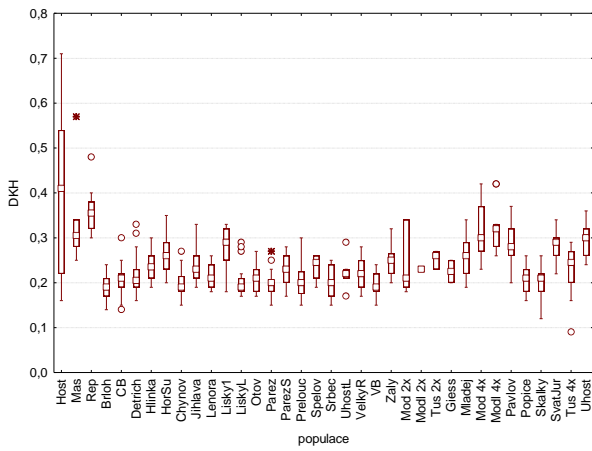
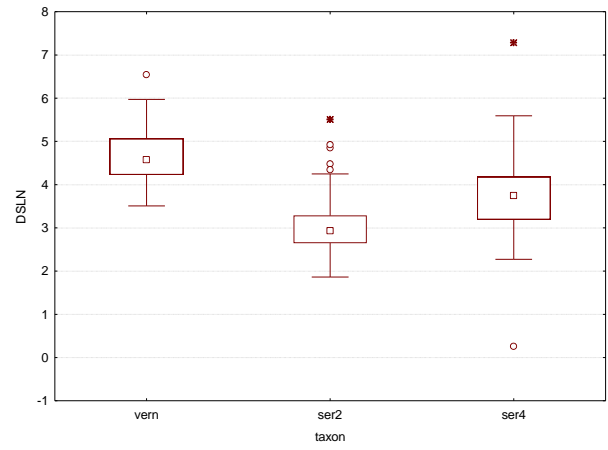
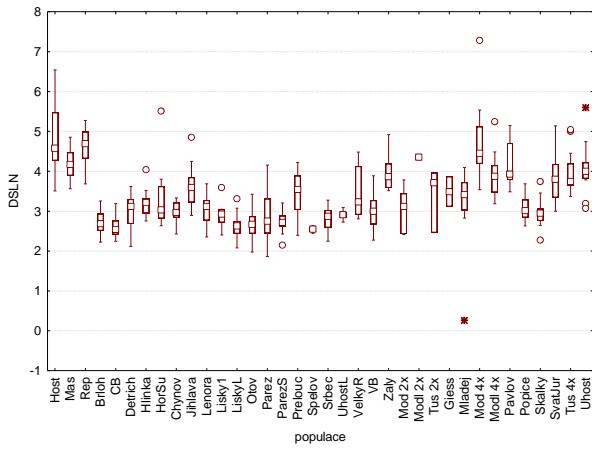
□ Median
 ▤ 25%-75%
 ┆ Non-Outlier Range
 ○ Outliers
 ★ Extremes

Obrázek č.26: Hodnoty znaků PCL, PICL, PV pro jednotlivé populace a sezónní cytotypy



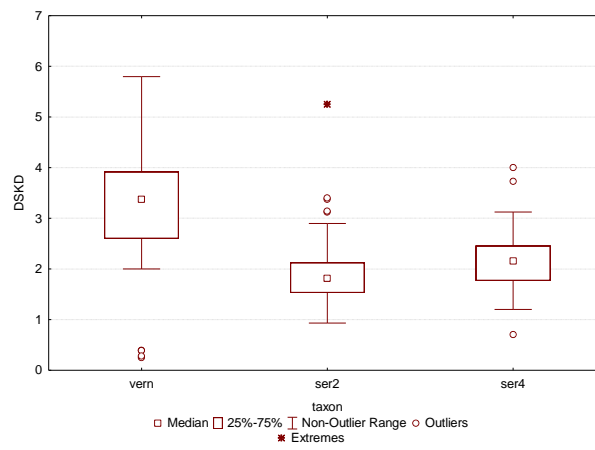
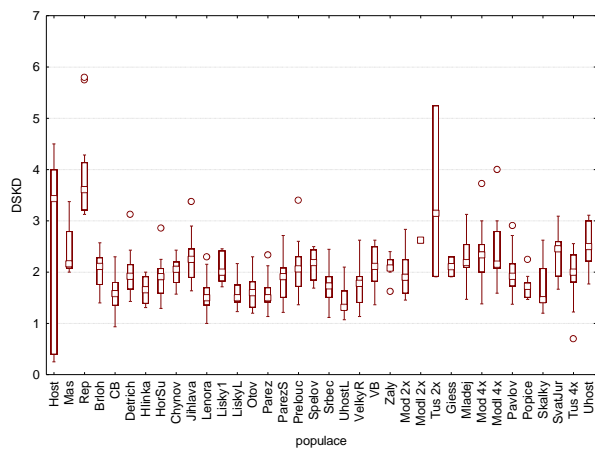
□ Median □ 25%-75% | Non-Outlier Range ○ Outliers
 * Extremes

Obrázek č.27: Hodnoty znaků ZL, ZLN, DSL pro jednotlivé populace a sezónní cytotypy



Median
 25%-75%
 Non-Outlier Range
 Outliers
 * Extremes

Obrázek č.28: Hodnoty znaků DSLN, DKH, DSKH pro jednotlivé populace a sezónní cytotypy



Obrázek č.29: Hodnoty znaku DSKD pro jednotlivé populace a sezónní cytotypy

5 Diskuse

5.1 Ploidie

Po přeměření všech jedinců byly získány dvě ploidie. Všechny populace zařazené do skupiny časně kvetoucích typů byly tetraploidní, u pozdně kvetoucích rostlin byly zjištěny diploidní a tetraploidní typy. Výsledné ploidie dokazují, že existence pozdního tetraploida je v České republice novinkou (KOUTECKÝ ET AL. 2012).

Typy ploidie a počty chromozómů u nás pravděpodobně byly dříve počítány pouze u časných tetraploidů, údaj pozdních diploidů byl převzat ze zahraniční literatury (KUBÁT 2000). Pozdní diploidi i tetraploidi nejsou na první pohled od sebe rozeznatelní, což pravděpodobně nenutilo k hlubšímu zkoumání jedinců.

Michalková udává na Slovensku tetraploidní *O. vernus*, který kvete od května do srpna (září), přičemž doba kvetení u *O. vernus* a *O. serotinus* (diploid) se může překrývat (MICHALKOVÁ 1997). *O. vernus* v tomto případě je popsán i s vyšším počtem interkalárních článků, než je obecně udávaný počet u časně kvetoucích jedinců *O. vernus* v ČR. Mohlo se teda stát, že tyto údaje zahrnují časně i pozdně kvetoucí jedince (námi udávané časně a nově zjištěné pozdní tetraploidy).

Problematika bude vyžadovat hlubší přezkoumání.

5.2 Chromozómové počty

V České republice je skupina *O. vernus* prezentována dvěma cytotypy. Časně kvetoucí typ je v literatuře popisován jako tetraploid s 40 chromozómy ($2n = 4x = 40$). U pozdně kvetoucího typu se vyskytují dva počty chromozómů: 20 ($2n = 2x = 20$; TISCHER 1934; ROTTGARDT 1956; SCHNEIDER 1964; WEBB & CAMARASA 1972; HARTL 1974) a 18 ($2n = 2x = 18$; MICHALKOVÁ 1998; DOBEŠ & VITEK 2000). Bolliger udává u pozdně kvetoucích diploidů oba počty: 18 chromozómů a vzácně 20 chromozómů (BOLLIGER 1996).

V rámci mé práce byly vybrány dvě populace rozdílných cytotypů, u kterých byl počítán počet chromozómů. Pro diploidní populaci Tatinná byla potvrzena hodnota 18 chromozómů, u tetraploidní populace Drásov 40 chromozómů. Tento počet potvrzuje Snogerup, který ve Švédsku vzácně našel i jedince s 20 chromozómy. Vysvětluje to jako ojedinělým výskytem aneuploidie (SNOGERUP 1983). Autoři, kteří popisují jedince s 20 chromozómy pocházejí převážně ze západní Evropy. Může se tak jednat o převažující hodnotu počtu

chromozómů na tomto území. Vzhledem k nejasnostem je třeba danou problematiku dále studovat.

Získané chromozómové počty byly dále použity jako kalibrační hodnoty pro cytometrická data.

5.3 Morfologická variabilita

Zkoumané časně kvetoucí populace, mnou označované jako *O. vernus* subsp. *vernus*, byly sbírány ve druhé polovině června (17. a 20. června). Pozdně kvetoucí populace, *O. vernus* subsp. *serotinus*, byly sbírány přibližně od začátku srpna do poloviny září. Doba kvetení obou sezónních typů se nepřekrývá, proto bylo snadné populace zařadit do 3 skupin.

Pomocí klasifikační diskriminační analýzy byly populace testovány, zda odpovídají danému rozdělení do 3 skupin. První analýza na průměrech populací byla stoprocentně úspěšná (tabulka č.11). Tabulka č. 12 ukazuje, že zařazení samotných jedinců do sezónních cytotypů je úspěšné více jak z 92,8 %. V poslední tabulce (tabulka č.13) jsou podrobně vypsáni všichni jedinci vzhledem k jejich úspěšnosti zařazení ku ploidii populace. Výsledné hodnoty dokazují, že mezi pozdními diploidy a tetraploidy je patrný morfologický gradient.

Populace, které se dají považovat za nejasně vyhraněné, jsou v tabulce označeny (úspěšnost $\leq 80\%$). Většinou se jedná o málo početné populace (Lisky1, Mas, Mod2, Tus2, Spelov).

Po důkladném přezkoumání hodnot znaků u jednotlivých populací bylo zjištěno, že časní jedinci se oddělují pomocí klíčových sezónních znaků (viz níže: *O. vernus* subsp. *vernus*). V této skupině byl nalezen jedinec (z populace Mas), který byl označen i přes sezónnost jako pozdně kvetoucí typ. Důvodem bylo získání vysoké měřené hodnoty úhlu odstávající větve ku stonku (U), tj. 48° . Podle Kubáta by měli mít časní jedinci hodnotu znaku U 25° - 45° a pozdní jedinci 50° - 80° (KUBÁT 2000).

Druhou a třetí skupinu tvořily pozdní diploidy a tetraploidy. Znak, který se jeví podle výsledků jako klíčový je celkový počet článků (viz níže *O. vernus* subsp. *serotinus*).

Za nejasně vyhraněné diploidní populace byly označeny Prelouc a Zaly. U obou populací bylo nalezeno několik jedinců, kteří byli analýzou označeni jako tetraploidy. Všichni tyto jedinci byli vzrůstově vyšší s vyšším celkovým počtem článků, než ostatní jedinci. U tetraploidní populace Popice je situace opačná. Jedinci, s podprůměrným celkovým počtem článků, menším poměrem délky a šířky listu i listenu byli hodnoceni jako diploidy.

Výskyt morfologicky přechodných jedinců by mohl být způsoben charakteristikou prostředí a výběrem typu hostitele (SNOGERUP 1983; BOLLIGER 1996). Jedinci parazitující na ‚dobrém‘ hostiteli mohou být mohutnější s vyšším počtem článků, fertálních větví, velikosti květenství. Vysoká morfologická variabilita se vyskytuje i u jiných poloparazitů, např. u rodu *Euphrasia*, kdy jedinci často bývají ovlivněni typem hostitele (YEO 1964), nebo rod *Melampyrum*, u kterého byl zjištěn vztah mezi počtem lodyžních článků a nadmořskou výškou (ŠTECH 1998).

Odontites vernus subsp. vernus

Výsledné hodnoty PCA ukazují jasné oddělení časně kvetoucích populací. Znaky, které se na oddělení podílejí, jsou: celkový počet článků, počet interkalárních článků, úhel odstávající větve ku stonku, velikost listu, listenu, délka koruny, délka a šířka kališních cípů. Všechny tyto znaky, kromě délky a šířky kališních cípů, se dají zahrnout mezi tzv. klíčové znaky spojené se sezónní variabilitou, což jen potvrzuje shodnost výsledků s literaturou (KUBÁT 2000; SNOGERUP 1983; BOLLIGER 1996). Časně kvetoucí jedinci jsou vzrůstově menší, mají nižší celkový počet článků a interkalárních článků, větší listy, listeny a květy. V nové studii *O. vernus* agg. (KOUTECKÝ ET AL. 2012) je za zásadní znak sezónní variability považován zejména počet interkalárních článků.

Podobným příkladem pro sezónní variabilitu je také *Odontites litoralis*, patřící do evropské skupiny *Odontites vernus* agg., který také zahrnuje časně a pozdně kvetoucími typy, jejichž doba kvetení se nepřekrývá. Oba dva typy mají stejný počet chromozómů ($2n = 2x = 18$). Časně kvetoucí typ *O. litoralis* subsp. *litoralis* je výrazně menší, má méně celkového počtu článků, minimum interkalárních článků a méně květů větší velikosti než pozdní typ (SNOGERUP 1983).

Odontites vernus subsp. serotinus

V literatuře je pozdně kvetoucí typ *O. vernus* subsp. *serotinus* označován za diploidní (KUBÁT 2000). Avšak u těchto jedinců byl nalezen dosud neznámý cytotyp, tetraploidní (KOUTECKÝ ET AL. 2012). Na pohled jsou oba cytotypy od sebe nerozeznatelné, lišící se pouze stanovištními podmínkami. Morfometrická analýza ale ukázala opak. Kromě zřejmého oddělení časných populací se povedlo i úspěšně vzájemně oddělit diploidy a tetraploidy

pozdních populací. Znaky, které se nejvíce podílejí na jejich oddělení, jsou celková délka lodyhy, počet článků, počet zubů na listu a listenu. Podle morfologie by měly být tedy tetraploidi nepatrně vyšší a měly by mít méně zubů na listech a listenech. Jako průkazný znak vyšla také délka kališní trubky a délka, šířka kališních cípu. Podle grafů popisné statistiky (viz Popisná statistika) je zřejmé, že by měly být kalichy tetraploidů větší, s delším a užším kališním cípem. Znaky na kalichu nebyly nikdy u *O. vernus* agg. udávány jako zásadní, proto by bylo vhodné znaky znovu otestovat v nových analýzách.

5.4 Stanovištní podmínky

Časně a pozdně kvetoucí typy se nelišily pouze sezónností, ploidií, morfologickými vlastnostmi ale i stanovištními podmínkami. Do analýzy byly zahrnuty 3 populace časných tetraploidů, 10 populací pozdních tetraploidů a 20 pozdních diploidů. Nepoměr nalezených populací je dán vzácností cytotypů. Časně kvetoucí tetraploid se vyskytuje velmi zřídka (taxon je dokonce zařazen mezi silně ohrožené druhy podle Červeného seznamu ČR; GRULICH 2012), zatímco pozdní diploid je označován za poměrně běžný druh. Rozšíření pozdních tetraploidů se také zdá být méně časté.

Časně kvetoucí tetraploid byl nalézán jako polní plevel obilnin nebo na úhorech. Pozdně kvetoucí diploid byl sbírán spíše na narušených, ruderálních stanovištích nebo podél cest a silnic. Pozdní tetraploid byl objeven v teplejších a sušších oblastech s kontinentálním klimatem (severozápadní Čechy, jižní Morava), vzácněji v mezofytiku (jižní Čechy: Modlešovice a Mladějovice). Podrobnější geografické rozšíření celé skupiny s úvahou vzniku jednotlivých sezónních cytotypů je popsáno v článku v Preslii (KOUTECKÝ ET AL. 2012), kterého je tato práce součástí.

Nicméně byly nalezeny i populace, které byly označeny jako smíšené, Tušimice a Modlešovice. V těchto populacích byli jedinci sbíráni na ekologicky odlišných místech. Jedinci sebraní u cesty v Tušimicích byli diploidní, přičemž jedinci o 50 metrů dále vysokém travním porostu již tetraploidní. Pro Modlešovice platí obdobná situace, kdy tetraploidní jedinci byli sbíráni podél cesty, která vyústila do pole. V poli byli nalezeni jedinci, kteří byli následně cytometrem označeni za diploidy. Na první pohled se diploidi a tetraploidi od sebe lišily, ale po zhodnocení dat morfologickými analýzami, se srovnáním všech vybraných znaků na všech jedincích nebylo potvrzeno, že se jednalo o jasnou morfologickou demonstraci diploidů a tetraploidů. Výsledky K.d.a. nevykazují stoprocentní úspěšnost v zařazení diploidních jedinců do skupiny pozdně kvetoucího diploidního typu.

Výrazná morfologická rozdílnost mohla být způsobena různým typem hostitele a typem prostředí, např. polní cesta versus louka (SNOGERUP 1986). Navíc v těchto dvou populacích výrazně početně převažovaly tetraploidi, proto by bylo statisticky nevhodné postavit výsledky na pár jedincích.

5.5 Souhrn

Výsledky potvrzují přítomnost dvou cytotypů ve střední Evropě. V rámci tetraploidních typů byly zjištěny dva sezónní ekotypy, časný a nově nalezený pozdní typ. Diploidní typ je značně variabilní, avšak sezónní typy nebyly zde nalezeny.

Časně kvetoucí a pozdně kvetoucí typy jsou snadno od sebe rozpoznatelné na základě sezónních znaků. Pozdní cytotypy jsou si velmi podobné, nepatrně lišící se celkovým počtem článků a velikosti kalicha.

Mezi cytotypy je s velkou pravděpodobností silná reprodukční bariéra, která může být způsobena jak dobou kvetení, tak různou hladinou ploidie (SNOGERUP 1986), základním chromozómovým číslem (diploidi: $n = 9$; tetraploidi $n = 10$) a nebo různými nároky na stanovištní podmínky.

Nalezení nové pozdní ploidie pokládá nové otázky o vzniku existence tetraploidních typů a jejich reprodukční bariéry. Pojetí agregátu *Odontites vernus* by mělo být přehodnoceno dalšími studiemi.

6 Závěr

Podle literárních zdrojů byly pro střední Evropu udávány dva taxony z agregátu *Odontites vernus*, které byly od sebe oddělovány na základě sezónních typů. Jedná se o časně kvetoucí tetraploid *Odontites vernus* subsp. *vernus* a pozdně kvetoucí diploid *Odontites vernus* subsp. *serotinus*.

V rámci diplomové práce bylo na území střední Evropy nasbíráno 33 populací z agregátu *O. vernus*. U každého jedince byla změřena ploidie a 27 znaků pro morfometrickou analýzu. Podle výsledků se ve střední Evropě nevyskytují dva, nýbrž tři taxony. Jedná se o dva sezónní typy v rámci tetraploidů a jednu skupinu pozdních diploidů. Jednotlivé sezónní cytotypy jsou od sebe dobře reprodukčně izolovány. Důvodem je buď sezónnost, odlišný počet chromozómů nebo rozdílné ekologické nároky.

Časně kvetoucí tetraploidní jedinci byli nalézáni vzácně jako polní plevel obilnin zhruba ve druhé polovině června (17. a 20. června). Oba dva pozdní cytotypy byly sbírány přibližně od začátku srpna do poloviny září, přičemž diploid byl nalézán převážně v mezofytiku na ruderalních stanovištích a tetraploid v teplých oblastech se suchými trávníky.

U pozdních cytotypů byly ověřeny počty chromozómů. Pro pozdní diploidní populaci Tatinná bylo spočítáno 18 chromozómů ($2n = 2x = 18$), pro pozdní tetraploidní populaci Drásov bylo napočítáno 40 chromozómů ($2n = 4x = 40$).

Časní tetraploidi jsou podle výsledků vzrůstově nižší s menším počtem článků, pouze jedním interkalárním článkem, větším listem, listenem a květem. Všechny znaky patří mezi tzv. klíčové sezónní znaky, potvrzuje se tak shodnost s literaturou.

Studium morfologie pozdních diploidů a tetraploidů ukázalo, že se cytotypy od sebe liší znaky: celková délka lodyhy, počet článků, počet zubů na listu, listenu, délka kališní trubky a délka, šířka kališních cípů. Pozdní tetraploidi jsou tak nepatrně vyšší, mají méně zubů na listech a listenech, delší kališní trubku a delší, užší kališní cípy.

Z morfologického hlediska se dá obecně říct, že byly nalezeny znaky, které jednotlivé sezónní cytotypy oddělují. Avšak tato definice není jednoznačná. V populacích se dají nalézt jedinci, kteří se průměrným hodnotám vymykají. Může se tak jednat o projev fenotypové plasticity nebo o projev vlivu výběru různého typu hostitele.

7 Seznam literatury

- Albers F. (1998): Chromosomenzahlen der Farn und Blütenpflanzen Deutschlands. – In: Wisskirchen R., Haeupler H. & Albers F. (eds), Standardliste Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands, p. 562–616, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Bolliger M. (1993): Systematik und Chorologie der Gattung *Odontites* Ludwig s. l. (*Scrophulariaceae*). – Flora 188: 345–365.
- Bolliger M. (1996): Monographie der Gattung *Odontites* (*Scrophulariaceae*) sowie der verwandten Gattungen *Macrosyringion*, *Odontitella*, *Bornmuellerantha* und *Bartsiella*. – Willdenowia 26: 37–166.
- Dobeš C. & Vitek E. (2000): Documented chromosome numbers checklist of Austrian vascular plants, p 642., Verlag des Naturhistorischen Museums, Wien.
- Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – Nature Protocols 2: 2233–2244.
- Fischer M. A., Oswald K. & Adler W. (2008): Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol. Ed. 3. – Land Oberösterreich & Biologiezentrum der OÖ Landesmuseen, Linz.
- Fröhner (1976): – In: Rothmaler, Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und der BRD : Kritischer Band Ed. 4. – Volk und Wissen, Berlin.
- Grulich V. (2012): Red List of vascular plants of the Czech Republic. Ed. 3. – Preslia 84: 631–645.
- Hartl D. (1974): *Scrophulariaceae*. – In: Hartl D. & Wagenitz G.(eds.), Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Vol 6/1 (*Scrophulariaceae–Plantaginaceae*), Ed. 2, p. 1–469, Verlag Paul Parey, Berlin & Hamburg.
- Hron (1974): Rostliny polí a zahrad: Ed. 1., p. 403, Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Jäger W. & Werner K. (2005): – In: Rothmaler, Exkursionsflora von Deutschland. 4. Gefäßpflanzen: Kritischer Band. Ed. 10. – Spektrum Akad. Verlag, Berlin.
- Koutecký et al. (2012): Distribution of cytotypes and seasonal variation in the *Odontites vernus* group in central Europe. – Preslia 84: 887–904.
- Kubát K. (2000): *Odontites* Ludwig. – In: Slavík B. (ed), Květena České republiky [Flora of the Czech Republic] 6: 449–454, Academia, Praha.
- Kubát K. et al. (2002): *Odontites* Ludw. – Klíč ke květeně České republiky, p.927, Academia, Praha.

- Michalková E. (1997): *Odontites* Ludw. – In: Goliašová K. (ed), Flóra Slovenska [Flora of Slovakia] 5/2: 375–384, Veda, Bratislava.
- Michalková E. (1998): Chromosome numbers of the two species of the genus *Odontites* (*Scrophulariaceae*) in Slovakia. – *Biologia* 53: 25–27.
- Olmstead R.G., dePamphilis C. W., Wolfe A. D., Young N.D., Elisons W.J. & Reeves P.A. (2001): Disintegration of the *Scrophulariaceae*. – *Amer. J. Bot.* 88(2): 348–361.
- R Development Core Team (2011): R: A language and environment for statistical computing. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna. URL: [<http://www.R-project.org>]
- Rohlf F. J. (2004): tpsUtil, file utility program. version 1.26., Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf F.J. (2006): tpsDig, version 2.10., Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rottgardt K. (1956): Morfologické, cytologické und physiologische Untersuchungen von Ökotypen in Schleswig-Holstein. – *Beitr. Biol. Pflanzen* 32: 225-278.
- Schneider U. (1964): Die Sippen der Gattung *Odontites* in Norddeutschland. – *Feddes Repert.* 69: 180–195.
- Schwarz O. (1935): Über einiger *Euphrasia*- und *Rhinanthus*-Arten des höchsten Erzgebirges. – *Report. Spec. Nov. Regni Veg.* 38: 43–48.
- Snogerup B. (1983): Northwest European taxa of *Odontites* (*Scrophulariaceae*). – *Acta Bot. Fenn.* 124: 1–62.
- Sóo R. (1926-1927): Systematische Monographie der Gattung *Melampyrum* I.,II.,III. – *Feddes Repert.* 23: 159-176, 385-397, 24: 127-193.
- StatSoft (2011): STATISTICA (data analysis software system), version 10., StatSoft Inc., <http://www.statsoft.com>.
- Štech M. (1998): Variabilita vybraných znaků druhů sekce *Laxiflora* (Wettstein) Soó 1927 a revize rodu *Melampyrum* L. v České republice [Variability of selected characters of the section *Laxiflora* (Wettstein) Soó 1927 and revision of the genus *Melampyrum* L. in the Czech Republic]. – PhD Thesis, University of South Bohemia, České Budějovice.
- Štech M. (2000): Seasonal variation in *Melampyrum nemorosum*. – *Preslia* 72:345–368.
- Tank D.C., Beardsley P.M., Kelchner S.A. & Olmstead R.G. (2006): L. A. S. JOHNSON REVIEW No. 7. Review of the systematics of *Scrophulariaceae* s.l. and their current disposition. – *Aust. Syst. Bot.* 19: 289–307.
- ter Braak C.J.F. & Šmilauer P. (2002): Canoco reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). –

Microcomputer, Power, Ithaka, NY.

- Těšitel J. (2005): Variabilita *Melampyrum sylvaticum* agg. v části střední Evropy [Variation of *Melampyrum sylvaticum* agg. in a part of Central Europe]. – BSc. Thesis, University of South Bohemia, České Budějovice.
- Těšitel J., Říha P., Svobodová Š., Malinová T. & Štech M. (2010): Phylogeny, life history evolution and biogeography of the Rhinanthoid *Orobanchaceae*. – Folia Geobot. 45: 347–367.
- Tischer G. (1934): Die Bedeutung der Polyploidie für die Verbreitung der Angiospermen. – Bot. Jahrb. Syst. 67: 1–6, Leipzig.
- Webb D. A. & Camarasa J. M. (1972): *Odontites* Ludwig. – In Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H. & Walters S. M. (eds). – Flora Europaea 3: 253–257, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Wettstein R. (1895): Der Saison-Dimorphismus als Ausgangspunkt fuer die Bildung neuer Arten im Pflanzenreiche. – Ber. Deutsch. Bot. Ges. 13: 303-313.
- Yeo P. F. (1954): The cytology of British species of *Euphrasia*. – Watsonia 3: 101–108.
- Zopfi H.-J. (1993): Ecotypic variation in *Rhinantus alectorolophus* (Scopoli) Pollich (*Scrophulariaceae*) in relation to grassland management. II. The genotypic basis of seasonal ecotypes. – Flora 188: 153–173.
- Zopfi H.-J. (1998): Life-history variation among populations of *Euphrasia rostkoviana* Hayne (*Scrophulariaceae*) in relation to grassland management. – Biol. J. Linn. Soc. 64: 179–205.

Soupis tabulek

Tabulka č.1: Přehled pojetí <i>Odontites vernus</i> agg. a udávaných znaků.....	7
Tabulka č.2: Znaký na listech	13
Tabulka č.3: Znaký na listenech.....	13
Tabulka č.4: Znaký na kalichu	13
Tabulka č.5: Znaký na koruně.....	13
Tabulka č.6: Znaký na prašníku	14
Tabulka č.7: Měřené znaký na celé rostlině a poměry znaků	14
Tabulka č.8: Seznam všech měřených populací s příslušnou ploidií.....	16
Tabulka č.9: CDA; Kanonické korelační koeficienty pouze pro průkazné znaký	24
Tabulka č.10: CDA; Kanonické korelační koeficienty pouze pro průkazné znaký.	26
Tabulka č.11: Klasifikační diskriminační analýza populací	28
Tabulka č.12: Klasifikační diskriminační analýza jedinců	28
Tabulka č.13: Klasifikační diskriminační analýza jedinců – výsledky pro jednotlivé pop.....	29

Soupis obrázků

Obrázek č.1: Geografické rozšíření <i>Odontites vernus</i> agg. (MEUSEL IN BOLLIGER 1993)	2
Obrázek č.2: Lokality znázorněné na mapě střední Evropy.....	10
Obrázek č.3: Kvantitativní znaky měřené na listech	18
Obrázek č.4: Kvantitativní znaky měřené na listenech	13
Obrázek č.5: Kvantitativní znaky měřené na kalichu	18
Obrázek č.6: Kvantitativní znaky měřené na koruně	13
Obrázek č.7: Kvantitativní znaky měřené na prašníku	14
Obrázek č.8: Časně kvetoucí tetraploid <i>Odontites vernus</i> subsp. <i>vernus</i> (Řepice).....	17
Obrázek č.9: Pozdně kvetoucí diploid <i>Odontites vernus</i> subsp. <i>serotinus</i> (Brloh).....	17
Obrázek č.10: Pozdně kvetoucí tetraploid <i>Odontites vernus</i> subsp. <i>serotinus</i> (Skalky).....	17
Obrázek č.11: Diploid s 18 chromozómy z lokality Tatinná	18
Obrázek č.12: Tetraploid se 40 chromozómy z lokality Drásov	18
Obrázek č.13: PCA; Rozmístění všech populací na základě analýzy	20
Obrázek č.14: Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru.....	20
Obrázek č.15: PCA; Rozmístění všech jedinců na základě analýzy jednotlivých rostlin.....	21
Obrázek č.16: PCA; Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru.	21
Obrázek č.17: PCA; Rozmístění populací na základě analýzy populací pozdních cytotypů...	22
Obrázek č.18: PCA; Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru.	22
Obrázek č.19: PCA; Rozmístění jedinců na základě analýzy jedinců pozdních cytotypů.....	23
Obrázek č.20: PCA; Promítnutí všech měřených použitých znaků v PCA prostoru	23
Obrázek č.21: CDA na úrovni populací s postupným výběrem (<i>forward selection</i>).	25
Obrázek č.22: Promítnutí 7 průkazných znaků v CDA prostoru.	25
Obrázek č.23: CDA na úrovni jedinců s postupným výběrem (<i>forward selection</i>) znaků.	27
Obrázek č.24: Promítnutí 21 průkazných znaků v CDA prostoru	27
Obrázek č.25: Hodnoty znaků D, U	30
Obrázek č.26: Hodnoty znaků PCL, PICL, PV	31
Obrázek č.27: Hodnoty znaků ZL, ZLN, DSL	32
Obrázek č.28: Hodnoty znaků DSLN, DKH, DSKH	33
Obrázek č.29: Hodnoty znaku DSKD pro jednotlivé populace a sezónní cytotypy	34

Příloha

Př. č.1: Použité znaky pro morfometrickou analýzu

Zkratka znaku	Popis
<i>kvantitativní znaky</i>	
ZL	počet zubů na listu
ZLN	počet zubů na listenu
PV	počet fertálních větví
U	úhel odstávající větve ku stonku (stupně)
PCL	celkový počet článků
PICL	počet interkalárních článků
D1	délka od kořene po první spodní vyvinutou větev (cm)
D3	délka od nejsvrchnější vyvinuté větve po poslední květ (cm)
D	celková délka lodyhy (cm)
DPV	délka nejdelší postranní větve (cm)
DL	délka listu (cm)
SL	šířka listu (cm)
DZL	délka zubu na listu (cm)
DLN	délka listenu (cm)
SLN	šířka listenu (cm)
DZLN	délka zubu listen (cm)
DK	délka kališní trubky (cm)
DKH	délka kališního horního cípu (cm)
SKH	šířka kališního horního cípu (cm)
DKD	délka kališního dolního cípu (cm)
SKD	šířka kališního dolního cípu (cm)
DKC	součet délky kališní trubky a horního kališního cípu (DK + DKH)
DC	délka koruny (cm)
DP	délka prašníku (cm)
<i>poměry</i>	
DSL	poměr délky a šířky listu (DL / SL)
DSLN	poměr délky a šířky listenu (DLN / SLN)
DSKH	poměr délky a šířky horního kališního cípu (DKH / SKH)
DSKD	poměr délky a šířky dolního kališního cípu (DKD / SKD)
DCK	poměr délky koruny a celkové délky kalicha (DC / DKC)

Vyřazené měřené znaky

Zkratka znaku	Popis
<i>kvantitativní znaky</i>	
VL	větev, ze které byl sbírán list
D2	délka stonku s vyvinutými větvemi (cm)
SDK	délka koruny spodní linie (cm)
SP	šířka prašníku (cm)
<i>poměry</i>	
PCLC	poměr celkového počtu článků a počtu interkalárních článků
DVD	poměr délky nejdelší postranní větve a celkové délky lodyhy

Př. č. 2: Spearmanovy korelační koeficienty mezi znaky (všichni jedinci). Koeficienty přesahující hodnotu 0,8 jsou zvýrazněny šedivým podkladem.

	D1	D2	D3	D	PCL	PICL	PCLC	PV	DPV	U	DVD	DL	SL	DSL	ZL	DZL	DLN	SLN	DSLN	ZLN	DZLN	DK	DKH	SKH	DSKH	DKD	SKD	DSKD	DKC	DC	DCK	DP
D1	*	-0,15	0,10	0,43	0,28	-0,12	0,21	-0,24	0,04	0,02	-0,05	0,16	0,12	0,01	0,08	0,09	0,19	0,22	0,07	-0,04	0,20	0,13	0,09	0,13	-0,03	0,11	0,12	-0,01	0,12	0,18	-0,02	0,05
D2	-0,15	*	0,26	0,66	0,34	0,06	0,32	0,78	0,62	0,15	0,58	0,28	0,34	0,02	0,25	0,12	0,03	0,13	-0,04	0,20	-0,03	-0,01	0,03	0,06	-0,03	0,01	-0,01	-0,01	0,01	-0,11	-0,10	0,11
D3	0,10	0,26	*	0,64	0,15	0,34	0,25	0,22	0,63	0,13	0,52	0,01	0,03	-0,05	0,00	-0,01	0,23	0,43	-0,07	0,10	0,09	-0,05	-0,04	0,00	-0,08	-0,04	-0,08	0,00	-0,05	-0,04	-0,02	0,11
D	0,43	0,66	0,64	*	0,50	0,14	0,49	0,46	0,71	0,12	0,59	0,31	0,30	0,05	0,20	0,10	0,22	0,36	0,02	0,18	0,11	0,04	0,05	0,09	-0,05	0,05	0,02	0,00	0,05	-0,02	-0,11	0,19
PCL	0,28	0,34	0,15	0,50	*	0,16	0,94	0,33	0,29	0,22	0,22	-0,11	-0,06	-0,16	0,18	-0,09	-0,23	-0,04	-0,21	0,14	-0,04	-0,24	-0,23	-0,03	-0,27	-0,18	-0,03	-0,25	-0,26	-0,12	0,15	0,01
PICL	-0,12	0,06	0,34	0,14	0,16	*	0,49	0,31	0,35	0,11	0,32	-0,39	-0,36	-0,16	-0,04	-0,20	-0,35	-0,21	-0,23	-0,04	-0,33	-0,30	-0,35	-0,19	-0,24	-0,34	-0,18	-0,22	-0,37	-0,16	0,26	-0,13
PCLC	0,21	0,32	0,25	0,49	0,94	0,49	*	0,40	0,38	0,23	0,31	-0,24	-0,18	-0,19	0,15	-0,14	-0,33	-0,11	-0,27	0,11	-0,15	-0,31	-0,32	-0,09	-0,32	-0,27	-0,09	-0,30	-0,36	-0,16	0,22	-0,04
PV	-0,24	0,78	0,22	0,46	0,33	0,31	0,40	*	0,58	0,18	0,58	0,10	0,14	-0,02	0,24	0,02	-0,16	-0,06	-0,13	0,11	-0,18	-0,13	-0,10	-0,05	-0,08	-0,11	-0,11	-0,06	-0,13	-0,10	0,05	-0,06
DPV	0,04	0,62	0,63	0,71	0,29	0,35	0,38	0,58	*	0,15	0,95	0,16	0,21	-0,03	0,09	0,06	0,20	0,34	-0,04	0,07	0,10	0,03	0,02	0,07	-0,04	0,01	0,03	-0,01	0,03	0,00	-0,06	0,11
U	0,02	0,15	0,13	0,12	0,22	0,11	0,23	0,18	0,15	*	0,14	-0,08	0,01	-0,17	0,07	-0,03	-0,16	0,04	-0,19	-0,07	-0,06	-0,22	-0,12	0,03	-0,22	-0,11	-0,03	-0,21	-0,19	-0,03	0,15	-0,17
DVD	-0,05	0,58	0,52	0,59	0,22	0,32	0,31	0,58	0,95	0,14	*	0,15	0,21	-0,03	0,06	0,05	0,17	0,29	-0,05	0,04	0,08	0,02	0,02	0,09	-0,05	0,01	0,04	-0,02	0,02	0,02	-0,04	0,09
DL	0,16	0,28	0,01	0,31	-0,11	-0,39	-0,24	0,10	0,16	-0,08	0,15	*	0,77	0,55	0,30	0,42	0,57	0,32	0,49	0,11	0,32	0,46	0,53	0,17	0,41	0,46	0,17	0,35	0,55	0,23	-0,40	0,29
SL	0,12	0,34	0,03	0,30	-0,06	-0,36	-0,18	0,14	0,21	0,01	0,21	0,77	*	-0,06	0,35	0,44	0,43	0,46	0,11	0,17	0,39	0,32	0,37	0,25	0,21	0,32	0,22	0,18	0,38	0,15	-0,27	0,17
DSL	0,01	0,02	-0,05	0,05	-0,16	-0,16	-0,19	-0,02	-0,03	-0,17	-0,03	0,55	-0,06	*	-0,06	0,10	0,37	-0,11	0,67	-0,08	0,01	0,33	0,39	-0,05	0,41	0,35	-0,01	0,35	0,41	0,14	-0,31	0,22
ZL	0,08	0,25	0,00	0,20	0,18	-0,04	0,15	0,24	0,09	0,07	0,06	0,30	0,35	-0,06	*	0,06	-0,13	0,06	-0,22	0,28	-0,08	0,00	-0,06	0,07	-0,11	-0,07	0,01	-0,06	-0,04	-0,06	-0,03	0,14
DZL	0,09	0,12	-0,01	0,10	-0,09	-0,20	-0,14	0,02	0,06	-0,03	0,05	0,42	0,44	0,10	0,06	*	0,24	0,17	0,14	0,08	0,19	0,21	0,28	0,14	0,18	0,13	0,12	0,17	0,08	-0,01	0,09	
DLN	0,19	0,03	0,23	0,22	-0,23	-0,35	-0,33	-0,16	0,20	-0,16	0,17	0,57	0,43	0,37	-0,13	0,24	*	0,69	0,62	0,09	0,55	0,59	0,62	0,33	0,42	0,55	0,34	0,36	0,68	0,32	-0,45	0,33
SLN	0,22	0,13	0,43	0,36	-0,04	-0,21	-0,11	-0,06	0,34	0,04	0,29	0,32	0,46	-0,11	0,06	0,17	0,69	*	-0,11	0,22	0,51	0,33	0,27	0,34	0,06	0,25	0,25	0,10	0,34	0,22	-0,20	0,19
DSLN	0,07	-0,04	-0,07	0,02	-0,21	-0,23	-0,27	-0,13	-0,04	-0,19	-0,05	0,49	0,11	0,67	-0,22	0,14	0,62	-0,11	*	-0,10	0,17	0,46	0,55	0,04	0,52	0,50	0,14	0,41	0,58	0,22	-0,42	0,27
ZLN	-0,04	0,20	0,10	0,18	0,14	-0,04	0,11	0,11	0,07	-0,07	0,04	0,11	0,17	-0,08	0,28	0,08	0,09	0,22	-0,10	*	-0,07	0,01	-0,02	0,02	0,00	-0,08	0,03	-0,06	-0,02	-0,15	-0,09	0,15
DZLN	0,20	-0,03	0,09	0,11	-0,04	-0,33	-0,15	-0,18	0,10	-0,06	0,08	0,32	0,39	0,01	-0,08	0,19	0,55	0,51	0,17	-0,07	*	0,35	0,30	0,26	0,15	0,31	0,25	0,15	0,37	0,22	-0,23	0,19
DK	0,13	-0,01	-0,05	0,04	-0,24	-0,30	-0,31	-0,13	0,03	-0,22	0,02	0,46	0,32	0,33	0,00	0,21	0,59	0,33	0,46	0,01	0,35	*	0,56	0,20	0,46	0,56	0,22	0,46	0,83	0,42	-0,60	0,39
DKH	0,09	0,03	-0,04	0,05	-0,23	-0,35	-0,32	-0,10	0,02	-0,12	0,02	0,53	0,37	0,39	-0,06	0,28	0,62	0,27	0,55	-0,02	0,30	0,56	*	0,16	0,76	0,91	0,15	0,62	0,91	0,33	-0,65	0,35
SKH	0,13	0,06	0,00	0,09	-0,03	-0,19	-0,09	-0,05	0,07	0,03	0,09	0,17	0,25	-0,05	0,07	0,14	0,33	0,34	0,04	0,02	0,26	0,20	0,16	*	-0,44	0,10	0,71	-0,27	0,19	0,32	0,00	0,14
DSKH	-0,03	-0,03	-0,08	-0,05	-0,27	-0,24	-0,32	-0,08	-0,04	-0,22	-0,05	0,41	0,21	0,41	-0,11	0,18	0,42	0,06	0,52	0,00	0,15	0,46	0,76	-0,44	*	0,69	-0,21	0,72	0,71	0,14	-0,58	0,27
DKD	0,11	0,01	-0,04	0,05	-0,18	-0,34	-0,27	-0,11	0,01	-0,11	0,01	0,46	0,32	0,35	-0,07	0,18	0,55	0,25	0,50	-0,08	0,31	0,56	0,91	0,10	0,69	*	0,11	0,70	0,87	0,35	-0,61	0,33
SKD	0,12	-0,01	-0,08	0,02	-0,03	-0,18	-0,09	-0,11	0,03	-0,03	0,04	0,17	0,22	-0,01	0,01	0,13	0,34	0,25	0,14	0,03	0,25	0,22	0,15	0,71	-0,21	0,11	*	-0,48	0,20	0,35	0,04	0,14
DSKD	-0,01	-0,01	0,00	0,00	-0,25	-0,22	-0,30	-0,06	-0,01	-0,21	-0,02	0,35	0,18	0,35	-0,06	0,12	0,36	0,10	0,41	-0,06	0,15	0,46	0,62	-0,27	0,72	0,70	-0,48	*	0,63	0,09	-0,57	0,25
DKC	0,12	0,01	-0,05	0,05	-0,26	-0,37	-0,36	-0,13	0,03	-0,19	0,02	0,55	0,38	0,41	-0,04	0,17	0,68	0,34	0,58	-0,02	0,37	0,83	0,91	0,19	0,71	0,87	0,20	0,63	*	0,41	-0,73	0,41
DC	0,18	-0,11	-0,04	-0,02	-0,12	-0,16	-0,16	-0,10	0,00	-0,03	0,02	0,23	0,15	0,14	-0,06	0,08	0,32	0,22	0,22	-0,15	0,22	0,42	0,33	0,32	0,14	0,35	0,35	0,09	0,41	*	0,25	0,05
DCK	-0,02	-0,10	-0,02	-0,11	0,15	0,26	0,22	0,05	-0,06	0,15	-0,04	-0,40	-0,27	-0,31	-0,03	-0,01	-0,45	-0,20	-0,42	-0,09	-0,23	-0,60	-0,65	0,00	-0,58	-0,61	0,04	-0,57	-0,73	0,25	*	-0,40
DP	0,05	0,11	0,11	0,19	0,01	-0,13	-0,04	-0,06	0,11	-0,17	0,09	0,29	0,17	0,22	0,14	0,09	0,33	0,19	0,27	0,15	0,19	0,39	0,35	0,14	0,27	0,33	0,14	0,25	0,41	0,05	-0,40	*

Př. č. 3: Seznam lokalit

Č.	Zkratka populace	Lokalita	GPS souřadnice	Nadm. v. (m.n.m.)	Datum
<i>Odontites vernus subsp. vernus 4x</i>					
1	Host	Hostovice (okr. Ústí nad Labem): pole ležící ladem cca 5 let, cca 0.4 km JZ od vesnice, silnice do vesnice Újezd	50°38'25"N, 14°00'48"E	270	20.6. 2010
2	Mas	Povrly (okr. Ústí nad Labem): cca 2.5 km SZ od vesnice, stará louka ležící ladem cca 0.3 km Z od vesnice Mašovice	50°41'07"N, 14°08'09"E	400	20.6. 2010
3	Rep	Řepice (okr. Strakonice): okraj pšeničného pole cca 0.6 km SV od vesnice Řepice a Rovná	49°16'58"N, 13°56'34"E	430	17.6.2010
<i>Odontites vernus subsp. serotinus 2x</i>					
4	Brlöh	Brlöh (okr. Pardubice): louka cca 600 m SV od vesnice	50°00'14"N, 15°33'52"E	230	25.8. 2010
5	CB	České Budějovice (okr. České Budějovice): travnatý pás mezi chodníkem a silnicí v ulici M. Horákové, blízko autobusové zastávky Dubenská, směrem Z od centra města	48°58'51"N, 14°26'27"E	395	4.9. 2010
6	Detrich	Dětřichov nad Bystřicí (okr. Bruntál): okraj lesní cesty cca 2.8 km SSV od vesnice	49°51'24"N, 17°24'33"E	630	22.8. 2010
7	Hlinka	Hlinka (okr. Bruntál): ruderalní vegetace mezi silnicí a polem cca 0.7 km Z kostela	50°16'50"N, 17°39'40"E	270	4.9. 2010
8	HorSu	Horní Suchá (okr. Karviná): dolní strana jezera v bývalém uhelném dolu Dukla, S od města, cca 2.6 km SSZ od železniční zastávky Havířov-Suchá	49°48'48"N, 18°27'06"E	265	14.9. 2010
9	Chynov	Chýnov (okr. Tábor): opuštěný lom u Pacovy hory, cca 2.2 km SV od železniční zastávky	49°25'54"N, 14°49'53"E	530	5.9. 2010
10	Jihlava	Jihlava-Lesnov (okr. Jihlava): ruderalní louka S od křižovatky hlavní silnice, J od okraje vesnice	49°25'32"N, 15°35'15"E	526	2.8. 2010
11	Lenora	Lenora (okr. Prachatice): okraj silnice, S od vesnice, cca 400 m S od autobusové zastávky	48°56'02"N, 13°47'50"E	780	24.8. 2011
12	Lisky I	Líský (okr. Kladno): travnatý porost (malá paseka), ca 400m SSZ od obce Líský	50°15'14"N, 13°55'30"E	395	31.8. 2010
13	LiskyL	Líský (okr. Kladno): okraj silnice, cca 0.6 km SSZ od centra vesnice Líský	50°15'16"N, 13°55'32"E	390	31.8. 2010
14	Otov	Otov (okr. Domažlice): okraj silnice, V od okraje vesnice	49°29'10"N, 12°50'48"E	410	8.9. 2010
15	Parez	Nový Pařezov (okr. Domažlice): ruderalní vegetace, na opuštěném stavebním pozemku	49°28'07"N, 12°50'20"E	440	8.9. 2010
16	ParezS	Starý Pařezov (okr. Domažlice): pastviny a okraj silnice, Z od vesnice	49°28'16"N, 12°50'08"E	410	8.9. 2010
17	Přelouc	Přelouč (okr. Pardubice): okraj cesty podél silnice Benešovice–Přelouč, J od města Přelouč	50°01'11"N, 15°34'24"E	235	25.8. 2010
18	Spelov	Spělov (okr. Jihlava): okraj silnice ve vesnici Spělov	49°19'56"N, 15°26'37"E	530	28.8. 2010
19	Srbec	Srbeč (okr. Rakovník): okraj silnice, cca 0.65 km S od kostela	50°13'50"N, 13°52'59"E	330	31.8. 2010
20	UhostL	travnatá louka, ca 100 m SV od obce Kadaňská Jeseň	50° 22' 04"N, 13° 16' 0"E	350	1.9. 2010
21	VB	Vyšší Brod (okr. Český Krumlov): lesní cesta cca 2 km JZ od náměstí vesnice	48°36'29"N, 14°17'12"E	720	26.8. 2010
22	VelkyR	Roudno (okr. Bruntál): louka J od kopce Velký Roudný, cca 1.3 km JV od J okraje vesnice	49°52'55"N, 17°31'09"E	660	21.8. 2010
23	Zaly	Valteřice (okr. Semily): pastvina cca 1.2 km SSV od vesnice	50°38'16"N, 15°33'44"E	700	13.8. 2011

Č.	Zkratka populace	Lokalita	GPS souřadnice	Nadm. v. (m.n.m.)	Datum
<i>Odontites vernus subsp. serotinus 4x</i>					
24	Giess	Geißhübl (Niederösterreich): okraj lesní cesty cca 1.3 km SZ od Z okraje vesnice	48°06'24"N, 16°12'49"E	510	20.9. 2010
25	Mladej	Mladějovice (okr. Strakonice): travnatý pás mezi silnicí a obdělávaným polem, 0.7 km S od vesnice	49°14'09"N, 14°02'59"E	400	29.8. 2010
26	Pavlov	Pavlov (okr. Břeclav): louka ležící ladem u kopce Děvín, cca 0.75 km SZ od kostela	48°52'42"N, 16°39'52"E	280	8.9. 2010
27	Popice	Popice (okr. Znojmo): suché luční Havranické vřesoviště, mezi vesnicí a kaplí JZ od vesnice	48°49'13"N, 16°00'46"E	290	7.9. 2010
28	Skalky	Havraníky (okr. Znojmo): suchá pastvina Skalky, J od vesnice	48°48'16"N, 16°00'35"E	300	7.9. 2010
29	SvatJur	Svätý Júr (okr. Pezinok): okraj silnice cca 2.1 km SZ od centra vesnice	48°16'08"N, 17°11'40"E	320	7.9. 2010
30	Uhost	Úhošťany (okr. Chomutov): travnatá cesta na úpatí kopce Úhošť, cca 1.2 km SSZ od vesnice	50°21'47"N, 13°15'08"E	470	1.9. 2010
<i>Odontites vernus subsp. serotinus smíšené: 2x; 4x</i>					
31	Tus	Kadaň (okr. Chomutov): na travnatých cestách, mezi areálem tušimické elektrárny a S cípem odkaliště elektrárny	50°22'44"N, 13°20'31"E	295	1.9. 2010
32	Mod	Modlešovice (okr. Strakonice): polní cesta cca 630 m SZZ od železniční zastávky Modlešovice, S od vesnice	49°15'30"N, 13°58'05"E	380	25.8. 2011
33	Modl	Modlešovice (okr. Strakonice): okraj polní cesty cca 100 m S od železniční zastávky Modlešovice, Z od vesnice	49°15'26"N, 13°58'33"E	380	25.8.2011
<i>Odontites vernus subsp. serotinus chromozómové počty</i>					
-		Tatinná (okr. Louny): cca 0.75 km VSV od mostu řeky Chomutovky protékající vesnicí, okraj silnice	50°23'03"N, 13°37'02"E	242	3.10. 2009
-		Drásov (okr. Brno): okraj křižovatka silnice a bývalé železnice, směr Hradčany, cca 1 km JZZ od kostela ve vesnici	49°19'37"N, 16°28'00"E	270	25.8. 2010

Př. č. 4: Ukázka nalepení rostlinných částí pro morfometrickou analýzu: list, listen, koruna, kalich a prašníky z lokality Svätý Júr

