

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA BOTANIKY



**Cytogeografie lipnice alpské (*Poa alpina* L.)
v Západních Karpatech a Sudetech**

Bakalářská práce

Autor: **Veronika Valová**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie a Ekologie

Forma studia: Prezenční

V Olomouci 2020

Vedoucí práce: **RNDr. Michal Hroneš, Ph.D.**

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Cytogeografie lipnice alpské (*Poa alpina* L.) v Západních Karpatech a Sudetech“ vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Michala Hroneše, Ph.D. s použitím uvedených literárních pramenů.

V Olomouci dne

Veronika Valová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce RNDr. Michalu Hronešovi, Ph.D. za jeho nekonečnou trpělivost, podporu a cenné rady při vzniku této práce, Správě CHKO Jeseníky za umožnění výzkumu v NPR Praděd a všem, kteří se podíleli na sběru. Děkuji také své rodině za podporu v průběhu celého studia.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Veronika Valová

Název práce: Cytogeografie lipnice alpské (*Poa alpina* L.) v Západních Karpatech a Sudetech

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc

Vedoucí práce: RNDr. Michal Hroneš, Ph.D., Katedra botaniky

Rok obhajoby: 2020

Abstrakt: Lipnice alpská (*Poa alpina* L.) tvoří polyploidní komplex s velkým počtem často aneuploidních chromozomových cytotypů. Vyskytuje se v Eurasii a Severní Americe, od horského do alpského pásma a má rozsáhlý arкто-alpinský areál. Druh je charakteristický dvěma rozmnožovacími módy, a to tvorbou živorodých klásků a rozmnožováním semeny vzniklými apomikticky či sexuálně. Práce se zabývá rozšířením cytotypů tohoto druhu v pohořích Západních Karpat a Sudet a závislostmi mezi ploidií rostlin a schopností tvorby pseudoviviparních či normálních květenství. Ploidní úroveň rostlin byla zjištěna u 77 jedinců z 24 populací metodou průtokové cytometrie. Celkem bylo na území Západních Karpat a Sudet zjištěno šest ploidních stupňů. Nejčastěji se vyskytuje tetraploidní cytotyp, méně pentaploidní a hexaploidní a vzácně triploidní a dodekaploidní. Statistickou analýzou byla odhalena závislost živorodosti na nadmořské výšce a zeměpisné šířce. S rostoucí nadmořskou výškou a s rostoucí zeměpisnou šířkou se více vyskytují rostliny živorodé. Živorodost naopak nezávisí na zeměpisné délce ani na ploidním stupni. Dále nebyla zjištěna žádná závislost ploidních stupňů na nadmořské výšce, zeměpisné šířce, či zeměpisné délce.

Klíčová slova: *Poa alpina*, *Poaceae*, polyploidie, průtoková cytometrie, živorodost

Počet stran: 26

Počet příloh: 1

Jazyk: Český

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Veronika Valová

Title: Cytogeography of alpine meadow grass (*Poa alpina* L.) in the Western Carpathians Mts. and the Sudetes Mts.

Type of thesis: Bachelor thesis

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc

Supervisor: RNDr. Michal Hroneš, Ph.D., Department of Botany

The year of presentation: 2020

Abstract: Alpine meadow grass (*Poa alpina* L.) forms a polyploid complex with a large number of often aneuploid cytotypes. It occurs in Eurasia and North America, from the mountain to the alpine zone and it has a large arcto-alpine distribution range. The species is characteristic by two reproductive modes, bulbil-producing and seed-producing by sex or apomixis. The thesis concerns the distribution of cytotypes of the species in the Western Carpathians Mts. and the Sudetes Mts. and focuses on correlations between ploidy of plants and ability of forming pseudoviviparous and normal spikelets. The ploidy level of plants was determined in 77 individuals from 24 populations using flow cytometry. In total, in the Western Carpathians Mts. and the Sudetes Mts., six ploidy levels were identified. The most common cytotype is tetraploid, pentaploids and hexaploids are less common, and triploids and dodecaploids occur rarely. Statistical analysis revealed dependence of pseudovivipary on altitude and latitude. Pseudoviviparous plants are more common with increasing altitude and latitude. Pseudovivipary does not depend on longitude and ploidy on the contrary. Further, there is no dependence of ploidy levels on altitude, latitude and longitude.

Keywords: flow cytometry, *Poa alpina*, *Poaceae*, polyploidy, pseudovivipary

Number of pages: 26

Number of appendices: 1

Language: Czech

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. CÍLE PRÁCE	2
3. TEORETICKÁ ČÁST	3
3.1 Polyploidie.....	3
3.2 Polyploidie u čeledi lipnicovité (<i>Poaceae</i>).....	4
3.3 Cytogeografie u čeledi lipnicovité (<i>Poaceae</i>)	6
3.4 Lipnice alpská (<i>Poa alpina</i> L.)	7
3.4.1 Rod <i>Poa</i>	7
3.4.2 Zařazení <i>Poa alpina</i> do systému.....	7
3.4.3 Morfologie	7
3.4.4 Rozmnožování	8
3.4.5 Rozšíření.....	8
3.4.6 Cytologie	10
3.4.7 Ekologie.....	11
4. MATERIÁL A METODIKA	12
4.1 Sběr rostlinného materiálu.....	12
4.2 Stanovení ploidní úrovně rostlin.....	12
4.3 Statistické zpracování	13
5. VÝSLEDKY.....	14
5.1 Zmapování výskytu jednotlivých cytotypů v pohořích Západních Karpat a Sudet.....	14
5.2 Korelace mezi ploidií rostliny, schopností tvorby pseudoviviparních/normálních květenství a geografii.....	17
5.2.1 Standardní regrese	17
5.2.2 Logistická regrese.....	18
6. DISKUZE	19
7. ZÁVĚR.....	21
8. LITERATURA	22
PŘÍLOHA 1	

1. ÚVOD

Polyplodizace patří mezi hlavní evoluční mechanismy u rostlin (Weiss-Schneeweiss et al. 2013). U polyplodů se mohou objevovat nové, často adaptivní vlastnosti umožňující jim obsadit nová stanoviště oproti rodičovským cytotypům (Grant 1981).

U čeledi *Poaceae* je velmi častý výskyt jak allopolyploidie, tak i autopolyploidie, a čeleď je tak ideálním modelem ke studiu polyplodních komplexů (Levy & Feldman 2002). Všechny trávy prošly největší pravděpodobností polyplodizací alespoň jednou během své evoluce (Stebbins 1971). Tato čeleď zahrnuje také významné polyplodní plodiny jako například kukuřici (Gaut & Doebley 1997), pšenici (Levy & Feldman 2002) a rýži (Zhang et al 2005).

Lipnice alpská (*Poa alpina* L.) je rozsáhlým polyplodním komplexem arkticko-alpinského areálu s mnoha variabilními cytotypy. Její význačnou vlastností je výskyt dvou reprodukčních módů, a to rozmnožování semeny a živorodost, což tomuto druhu umožňuje obsazení více ekologických nik. Semena lipnice alpské navíc mohou být tvořena sexuálně či apomikticky. V rámci tohoto druhu se také vyskytuje mnoho aneuploidních chromozomových čísel.

2. CÍLE PRÁCE

Tato bakalářská práce se zabývá cytogeografií lipnice alpské (*Poa alpina* L.) v Západních Karpatech a Sudetech.

Cílem této bakalářské práce je:

- a) Rešerše odborné literatury týkající se problematiky cytogeografie polyploidních trav.
- b) Zmapování výskytu jednotlivých cytotypů v pohořích Západních Karpat a Sudet.
- c) Testování korelace mezi ploidií rostliny a schopností tvorby pseudoviviparních/normálních květenství.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Polyploidie

Polyploidními nazýváme organismy s více než dvěma chromozomovými sadami v jádře buňky (Ramsey & Schemske 1998; Briggs & Walters 2001). Polyploidie patří mezi hlavní mechanismy evoluce nejen u rostlin, ale také u mnoha dalších eukaryot (Soltis & Soltis 1999; Weiss-Schneeweiss et al. 2013). Polyploidie jsou často nositeli nových vlastností ve srovnání s rodičovskými cytotypy (Levin 1983). Některé tyto vlastnosti mohou být adaptivní a umožňují obsadit nové ekologické niky. Odlišné cytotypy jsou často reprodukčně izolované postzygotickými bariérami, a tak je polyploidie řazena mezi hlavní mechanismy, kterými si rostliny vytváří reprodukční izolaci (Grant 1981). Polyploidie jsou také spojovány s vegetativní reprodukcí oproti diploidům rozmnožujícím se spíše semeny (Herben et al. 2017). Odhaduje se, že přibližně 70 % krytosemenných rostlin a dokonce 95 % kaprad'orostů prošlo alespoň jednou polyploidizací (Grant 1981; Masterson 1994).

Existují různé typy polyploidie. Autopolyploidie vzniká znásobením stejné chromozomové sady, tedy v rámci jednoho taxonomického druhu. V meióze tak vznikají kvůli homologii chromozomů multivalenty a rostlina vykazuje polysomickou dědičnost. Autopolyploidie je způsobena například splynutím dvou neredukovaných gamet nebo experimentálně působením kolchicinu. Allopolyploidie vzniká splynutím nesterilních chromozomových sad pocházejících od alespoň dvou různých příbuzných druhů. Díky tomu vznikají v meióze bivalenty a rostlina vykazuje disomickou dědičnost (Ramsey & Schemske 1998; Briggs & Walters 2001).

3.2 Polyploidie u čeledi lipnicovité (*Poaceae*)

Čeď *Poaceae* je jednou z největších čeledí krytosemenných rostlin. Zahrnuje okolo 10 000 druhů zařazených v 600 až 700 rodech (Kellogg 2001). U čeledi *Poaceae* se vyskytuje autopolyploidie, allopolyploidie i segmentální allopolyploidie (stav mezi oběma extrémy, kdy se v meióze tvoří jak bivalenty, tak i multivalenty a jedinec tak vykazuje jak disomickou, tak i polysomickou dědičnost). Allopolyploidi bývají plně fertillní a většina je jednoletá, včetně mnoha hospodářsky využívaných rostlin (*Triticum*, *Zea mays*, *Oryza*) s dobře prostudovanými genetickými systémy. Vzhledem k výše uvedenému a možnosti snadno vytvořit umělé polyploidy je čeď *Poaceae* ideálním modelem ke studiu polyploidie (Levy & Feldman 2002).

Většina, nebo s velkou pravděpodobností všechny trávy jsou polyploidní, což je založeno na předpokladu, že všechny taxony se základním chromozomovým číslem $x = 12$ prošly během své evoluční historie polyploidizací (Stebbins 1971). U bazálních podčeledí trav je základní chromozomové číslo právě $x = 12$, což nasvědčuje tomu, že předeek travin byl sám polyploidní a v tom případě by byly v současné době se vyskytující diploidi paleopolyploidní (Levy & Feldman 2002). Přes 60 % druhů je neopolyploidních, prošly tedy ještě dalším cyklem polyploidizace (Goldblatt 1980). Více než 65 % těchto neopolyploidů vzniklo mezirodovou či mezidruhovou hybridizací s následným vznikem allopolyploidních druhů a ostatní vznikli autopolyploidizací (Stebbins 1971). Mezi trávy vzniklé autopolyploidizací patří například *Dactylis glomerata* (Lumaret et al. 1989) a druhy rodu *Cymbopogon* (Lavania et al. 2012). Autopolyploidie je podle některých autorů převládající proces při vzniku nových taxonů (Barker et al. 2016). Další autoři však uvádí především u trav jako největší zdroj celogenomových duplikací allopolyploidizací (Díaz-Pérez et al. 2014).

Příkladem autotetraploidní evoluce u trav je polyploidní komplex *Dactylis glomerata* L., který zahrnuje diploidy a autotetraploidy. Několik morfologicky odlišitelných subspecií je diploidních a tři subspecie jsou tetraploidní, a to *D. glomerata* subsp. *glomerata*, subsp. *marina* a subsp. *hispanica* (Lumaret et al. 1989).

Příkladem allopolyploidní evoluce u trav je rod *Spartina*, který zahrnuje tetraploidní ($2n = 40$), hexaploidní ($2n = 60-62$) a dodekaploidní ($2n = 122, 124$) druhy. Žádné diploidní druhy nejsou známy. Rod se dělí na dvě základní větve, a to hexaploidní větev (*S. maritima*, *S. alterniflora* a *S. foliosa*) na jejíž bázi se odděluje tetraploidní

S. spartinae a tetraploidní větev zahrnující všechny ostatní tetraploidní druhy. *Spartina alterniflora* roste na východním pobřeží Severní Ameriky a byla introdukována na západní pobřeží v Kalifornii, kde tvoří hybridní roje se zde původní *S. foliosa*. Jediným původním druhem rostoucím v Evropě a Africe je *S. maritima*, vyskytují se podél pobřeží Atlantiku. *Spartina alterniflora* byla introdukována také do jižní Anglie a západní Francie. V Anglii vznikl hybridizací původní *S. maritima* a introdukované *S. alterniflora* sterilní hybrid *S. × townsendii*. Zdvojením chromozomových sad u *S. × townsendii* pak vznikl fertillní allopolyploidní druh *S. anglica* ($2n = 122-124$; dodekaploidní) s širokou ekologickou valencí a rychlým šířením. Ve Francii vznikl odlišný sterilní hybrid opět křížením *S. maritima* a *S. alterniflora*, označovaný jako *S. × neyrautii* (Ainouche et al. 2004).

Významnými allopolyploidy pro člověka jsou například allohexaploidní pšenice setá (Levy & Feldman 2002) nebo allotetraploidní kukuřice (Gaut & Doebley 1997). Pšenice má $n = 21$ chromozomů, je allohexaploidní a vznikla složením tří různých genomů (BBAADD), a to hybridizací mezi tetraploidem (BBAA) a diploidem (DD) následovanou znásobením chromozomů. Dva ze tří diploidních předků jdou známi, a to *Triticum urartu* (AA) a *Aegilops tauschii* (DD) zatímco předek s genomem B je neznámý. Nejbliže genomu B je *Aegilops speltoides* (Feldman 2001).

3.3 Cytogeografie u čeledi lipnicovité (*Poaceae*)

V biosystematice je při studiu ploidně variabilních skupin rostlin důležitá znalost geografického rozšíření jednotlivých cytotypů (Suda 2007, Perný et al. 2008). Cytogeografie může umožňovat pohled na ekologické odlišnosti cytotypů a frekvenci jejich reprodukčních interakcí (Jersáková et al. 2010). Při zkoumání populací druhu není vzácné objevení více cytotypů. Cytotypy mohou mít různá rozšíření, ale mohou být morfologicky těžko odlišitelné nebo zcela neodlišitelné. Důležitá je také znalost reprodukčního módu rostlin, tedy sexuálního nebo apomiktického. Bez znalosti apomixie u lipnice alpské by bylo obtížné vysvětlit velké množství chromozomových čísel, která se u ní vyskytují (Favarger 1984).

Příkladem polyploidního komplexu u čeledi *Poaceae* je komplex *Molinia caerulea*. V Evropě je uváděno celkem šest cytotypů a to diploidi ($2n = 18$), tetraploidi ($2n = 36$), hexaploidi ($2n = 54$), oktoploidi ($2n = 72$), dekaploidi ($2n = 90$) a dodekaploidi ($2n = 108$). Dekaploidi jsou však pravděpodobně mylně uváděni na základě špatných chromozomových počtů a nejspíš se jednalo o dodekaploidy. Tetraploidní cytotyp se vyskytuje po celé Evropě a sympatricky s ostatními cytotypy. Odděleně se vyskytují oktoploidní a dodekaploidní cytotypy. Dodekaploidi rostou v západní a jižní části střední Evropy, oktoploidi ve východní části střední Evropy a v jihovýchodní Evropě. *Molinia caerulea* je převážně tetraploidní a vzácně se vyskytují také diploidi a hexaploidi. Vyšší ploidní stupně jsou řazeny k taxonu *Molinia arundinacea* Schrank, který zahrnuje dvě subspecie (Dančák et al. 2012).

Dalším příkladem polyploidního komplexu u trav je *Phleum pratense* zahrnující pouze dva druhy. *Phleum pratense* je nejčastěji hexaploidní ($2n = 42$) a vzácně tetraploidní ($2n = 28$; Itálie, Bulharsko, Slovensko a Polsko) nebo oktoploidní ($2n = 56$; Itálie). Diploidi ($2n = 14$) jsou označovány jako *Phleum bertolonii*. Vyskytují se méně často a ve většině případů společně s hexaploidy. Většinu populací tvoří pouze hexaploidní cytotyp. Ploidně smíšené populace se nachází hlavně v Západních Karpatech a vzácněji ve Východních Karpatech. V Jižních Karpatech jsou pouze populace hexaploidní. Rozšíření cytotypů může být způsobeno odlišnými migračními trasami, anebo dlouhodobým vyséváním hexaploidního *P. pratense* (Perný et al. 2008).

3.4 Lipnice alpská (*Poa alpina* L.)

3.4.1 Rod *Poa*

Poa je největším rodem trav obsahující okolo 575 druhů. Zasahuje do temperátních, boreálních i arktických oblastí a ostrůvkovitě také do tropů. Je obtížně taxonomicky vymežitelný (Gillespie & Soreng 2005). Základní chromozomové číslo je $x = 7$ ale výskyt aneuploidie může způsobovat vnitrodruhovou variabilitu (Müntzing 1954). Hlavním zdrojem proměnlivosti tohoto rodu je mezidruhovú hybridizace, polyploidie a fakultativní apomixie (Gillespie & Soreng 2005). Vysoký stupeň polyploidizace vede k názoru, že mnoho druhů vzniklo allopolyploidně (Patterson et al. 2005). Aneuploidie mezi vysoce polyploidními taxony pak ukazuje na autopolyploidii. Mnoho druhů lipnic má velký rozsah ploidních stupňů od diploidů k oktaploidům (Kelley et al. 2009), nebo až k dodekaploidům (Soreng 2005).

3.4.2 Zařazení *Poa alpina* do systému

Lipnice alpská je řazena do sekce *Bolbophorum*. Do této sekce se dále řadí například u nás rostoucí *P. badensis* a *P. bulbosa*. Lipnice sekce *Bolbophorum* jsou řídce až hustě trsnaté, vytrvalé, s vnitropochevními výběžky. Mají hladké stéblo, které je na bázi baňaté nebo oděné starými listy. Jejich listy jsou ploché až svinuté, obvykle s kápoitou špičkou. Větve laty jsou hladké až draslavé, oblé. Plucha má na kýlu a žilkách tupé, často dlouhé chlupy a někdy krátké a přisedlé chlupy na abaxiální straně. (Edmondson 1980).

3.4.3 Morfologie

Lipnice alpská je volně trsnatá, 15–30(–40) cm vysoká travina. Stébla jsou přímá nebo kolénkatě vystoupavá, hladká, chudě olistěná, s bázi válcovitě obalenou pochvami. Listy jsou 4–10 cm dlouhé, 2–4,5 mm široké, ploché, bez chrupavčitého lemu. Jazyček dolních listů je 1–2(–3) mm dlouhý, uťatý. Jazyček stébelného listu je 3–5 mm dlouhý, často dřipený. Lata je vejčitě jehlancovitá s větévkami hladkými, ve spodním nodu vyrůstajícími v páru. Klásky jsou nachově zbarvené s 4–6(–9) květy, často živorodé (obr. 1). Plevy jsou nestejně. Plucha je hustě chlupatá na žilkách a kýlu, řídce chlupatá mezi žilkami, obvykle řídce huňatá na bázi. Pluška je dole na kýlech brvitá (Edmondson 1980; Dostál 1989).



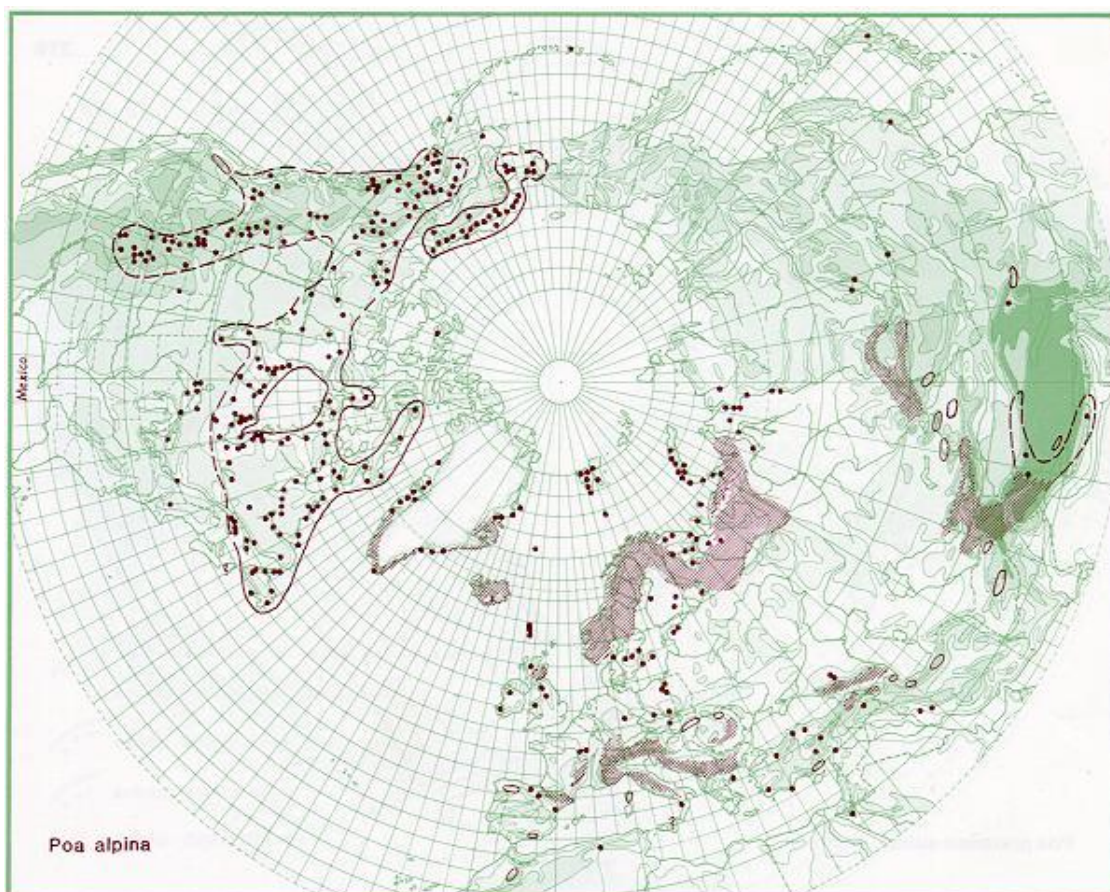
Obrázek 1: Živorodá lipnice alpská (Velká studená dolina, Vysoké Tatry).

3.4.4 Rozmnožování

Poa alpina se může rozmnožovat semeny (obilkami) nebo také živorodě pomocí živorodých klásků (Müntzing 1980). Živorodé klásky vznikají vegetativně přeměnou květního meristému (Steiner et al. 2012). Rostliny tvořící semena jsou fakultativními apomikty, semena tedy vznikají buď sexuálně nebo apomikticky (Müntzing 1933; Steiner et al. 2012). Frekvence výskytu rostlin rozmnožujících se semeny klesá, a frekvence výskytu živorodých rostlin naopak stoupá se zvětšující se nadmořskou výškou (Fischer et al. 2011). Na území České republiky se vyskytují pouze neživorodé rostliny (Špryňar & Štěpánek 2019).

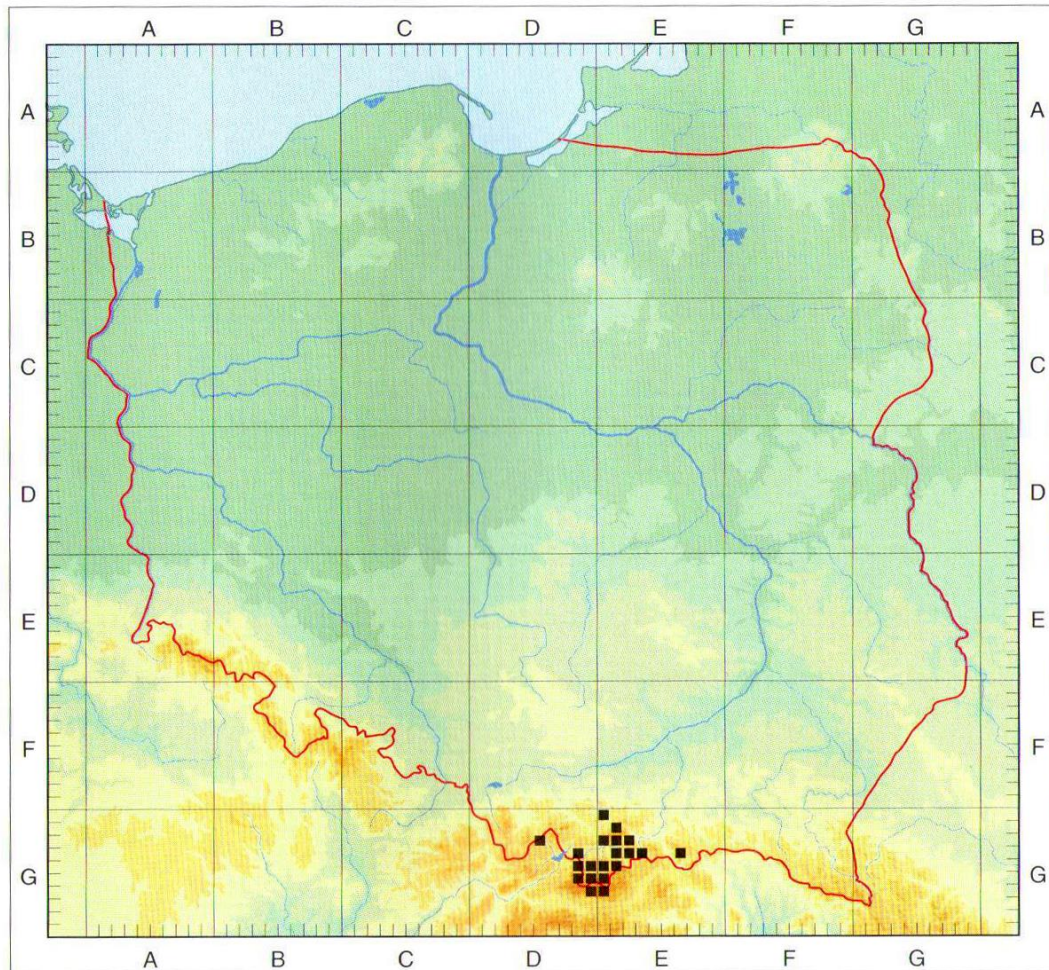
3.4.5 Rozšíření

Lipnice alpská má rozsáhlý arкто-alpínský areál výskytu na severní polokouli až po 81°40' severní šířky (Schröter 1926). Celkové rozšíření uvádí Hultén & Fries (1986; obr. 2).



Obrázek 2: Celkové rozšíření lipnice alpské (Hultén & Fries 1986).

V České republice se lipnice alpská vyskytuje ve Velké kotlině v Hrubém Jeseníku a na Plechém na Šumavě (Stifterův pomník), kde je uváděna do roku 1985 (Špryňar & Štěpánek 2019). V roce 2018 byla pak na Plechém u Stifterova pomníku znovu nalezena (Koutecký 2019). Další výskyt je pak uváděn z Králického Sněžníku (Dostál 1950), tato lokalita je však zaniklá. Na Slovensku se vyskytuje od Povážského Inovce po Nízke Tatry a Belanské Tatry, v Kremnických vrších, Pieninách a Slovenském ráji (Dostál 1989). Rozšíření v Polsku shrnuje Zajac & Zajac (2001; obr. 3). Lipnice alpská je zde vázána převážně na území Tater.



Poa alpina L.
Wiechlina alpejska

Obrázek 3: Rozšíření lipnice alpské v Polsku (Zajac & Zajac 2001).

3.4.6 Cytologie

Poa alpina je polyploidní komplex obsahující mnoho cytotypů s různými chromozomovým čísly a častou aneuploidií. Vyskytuje se až 18 různých cytotypů (Müntzing 1954). Chromozomová čísla jsou v rozsahu $2n = 22$ až více než 60 (Müntzing 1933, 1980). Ve Skandinávii a Švýcarsku uvádí Müntzing (1933, 1940) nejčastěji počet chromozomů mezi 25 až 50. Dostál (1989) a Chrtek (2002) uvádí chromozomové počty $2n = 21, 22, 26, 28, 33-46$.

3.4.7 Ekologie

Roste ve skalních štěrbinách, na kamenitých svazích, v nivách, na holích, pastvinách, zarostlých sutích a na mokvavých místech od horského do alpinského pásma. Zřídka sestupuje níže údolím potoků. Obsazuje vlhké, živné, zásadité až slabě kyselé, humózní, kamenité i hlinité půdy. Doba kvetení je od července do srpna (Dostál 1950; Dostál 1989; Chrtěk 2002). Typické stanoviště lipnice alpské ukazuje obr. 4.



Obrázek 4: Lokalita lipnice alpské Skalnaté pleso ve Vysokých Tatrách.

4. MATERIÁL A METODIKA

4.1 Sběr rostlinného materiálu

Sběry rostlinného materiálu byly prováděny na území České republiky, Slovenska a Polska mezi roky 2011–2019. Celkem bylo nasbíráno 77 jedinců z 24 populací (Příloha 1). Na lokalitě bylo nejčastěji odebráno 5 jedinců, u prvotních sběrů byl však často odebrán pouze jeden jedinec. U kvetoucích rostlin byla zaznamenána tvorba normálních či pseudoviviparních květenství.

Odebrané rostliny byly umístěny do kultivace ve skleníku katedry botaniky PřF UP v Olomouci a byly označeny kódy, kdy písmena označují lokalitu a číslo konkrétního jedince.

4.2 Stanovení ploidní úrovně rostlin

DNA-ploidní úroveň rostlin byla zjištěna pomocí průtokové cytometrie metodou vnitřního standardu (Doležel et al. 2007). Jako standardy se známým obsahem DNA byly použity listy hrachu (*Pisum sativum* L. 'Ctirad' 2C = 9,09 pg), žita (*Secale cereale* L. 'Daňkovské' 2C = 16,19 pg) a kukuřice (*Zea mays* L. 'CE-777' 2C = 5,43 pg).

Část listu (přibližně 0,5 × 0,5 cm) společně s přibližně stejným množstvím standardu byla homogenizována žiletkou v Petriho misce s 1000 µl pufru LB01. Takto vzniklý homogenát byl přes nylonový filtr napipetován do kyvety. Bylo přidáno 500 µl pufru a 50 µl fluorochromu DAPI (4',6-diamidin-2-fenylindol) nebo propidium jodidu (PI).

Připravené vzorky byly analyzovány na průtokových cytometrech Partec ML (vzorky s DAPI) a Accuri C6 (vzorky s PI). U každého vzorku bylo změřeno 3000 jader. DNA-ploidní stupeň byl určen z grafického výstupu na základě poměru vzdáleností G1 peaku vzorku a standardu.

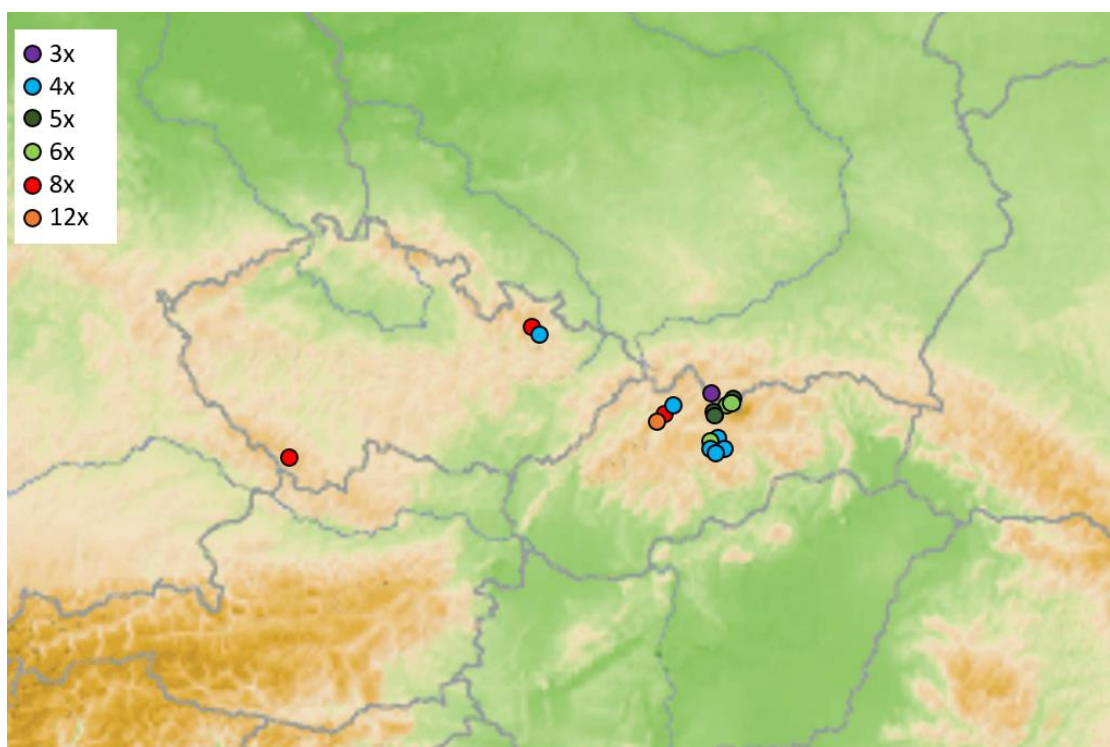
4.3 Statistické zpracování

Data ze sběrů a průtokové cytometrie byla zaznamenána do programu Microsoft Excel a následně zpracována ve statistickém programu NCSS 9 (Hintze 2013). Zde byly vypočítány regresní přímky pro závislost ploidie na zeměpisné délce, zeměpisné šířce a nadmořské výšce. Pomocí logistické regrese byla dále testována závislost tvorby pseudoviviparních květenství na zeměpisné délce, zeměpisné šířce, nadmořské výšce a ploidii.

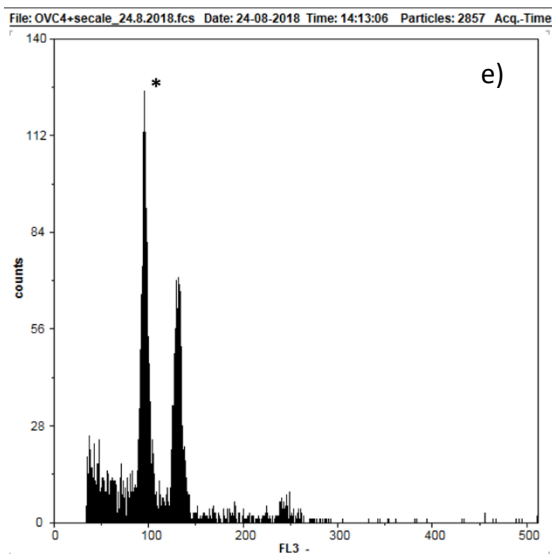
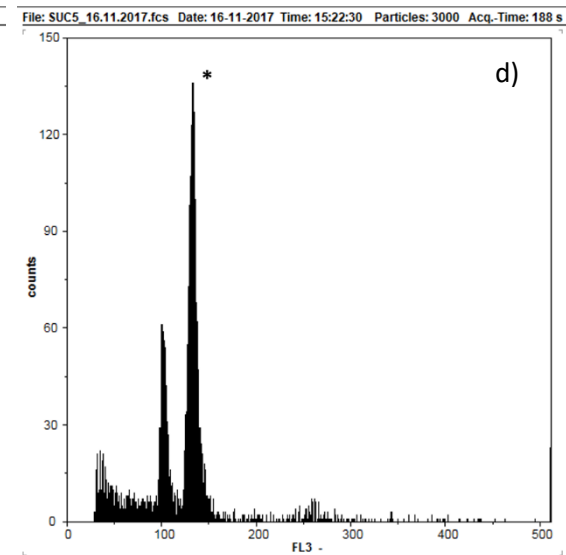
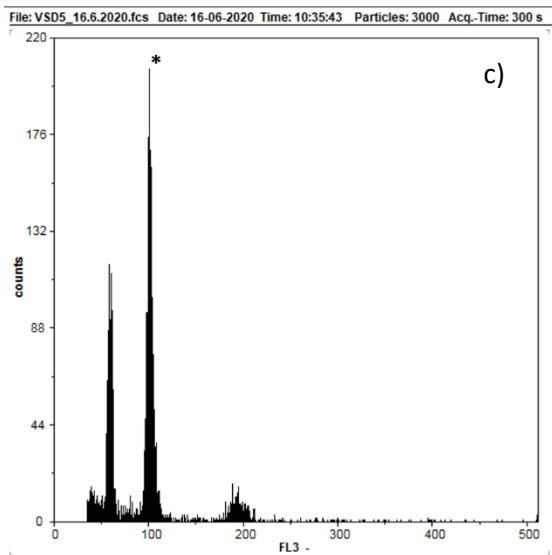
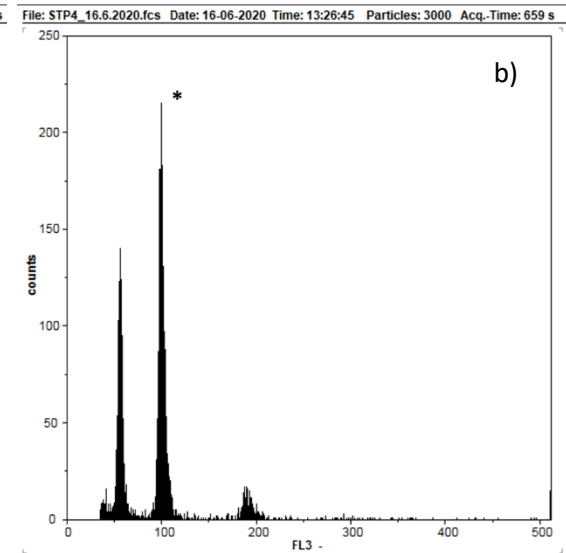
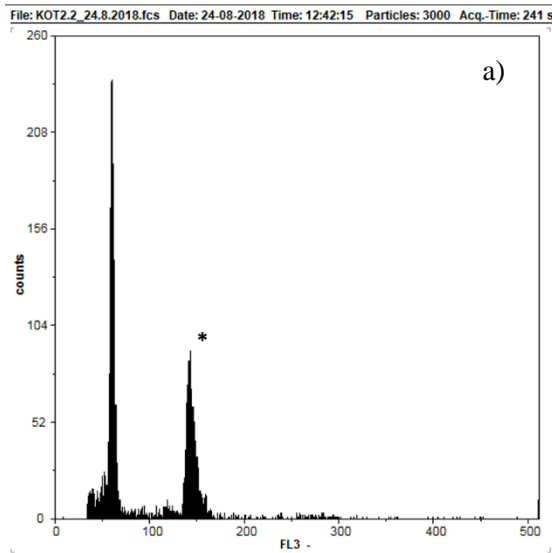
5. VÝSLEDKY

5.1 Zmapování výskytu jednotlivých cytotypů v pohořích Západních Karpat a Sudet

Na průtokovém cytometru bylo změřeno celkem 77 jedinců z 24 populací lípnice alpské (obr. 6). V těchto populacích bylo zjištěno celkem 6 ploidních úrovní a to triploidní (3x), tetraploidní (4x), pentaploidní (5x), hexaploidní (6x), oktaploidní (8x) a dodekaploidní (12x). Triploidní cytotyp byl zaznamenán pouze v Západních Tatrách. Tetraploidi byli nejčastějším cytotypem a byli zaznamenáni ve Velké kotlině v Hrubém Jeseníku, na Malé Fatře a v Nízkých Tatrách. Pentaploidi byli nalezeni ve Vysokých Tatrách, hexaploidi ve Vysokých Tatrách a Nízkých Tatrách, oktaploidi na Šumavě, v Hrubém Jeseníku a na Malé Fatře a dodekaploidi pouze na Malé Fatře (obr. 5).

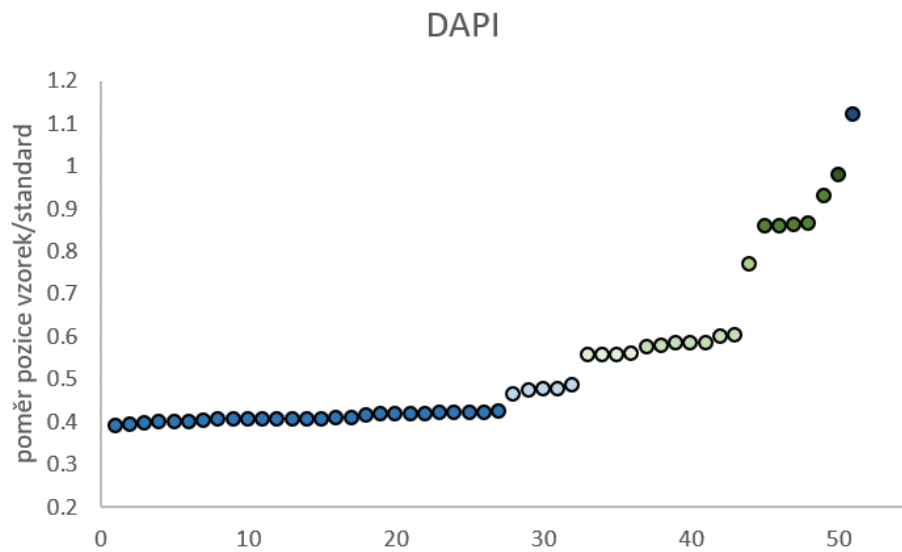


Obrázek 5: Rozšíření cytotypů v Západních Karpatech a Sudetech.

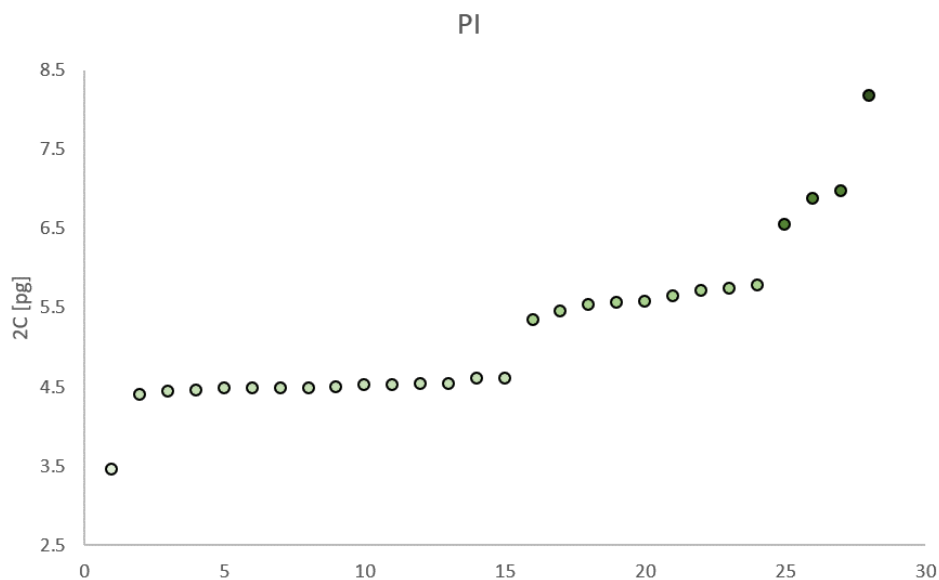


Obrázek 6: Příklady výstupů z průtokového cytometru Partec ML. Na ose x je škála, pomocí které je stanovována ploidie, na ose y pak počty analyzovaných částic. Symbol hvězdičky značí peak vnitřního standardu, u a), b), c) a d) *Pisum sativum*, u e) *Secale cereale*. Další peaky jsou pak různé ploidní stupně *Poa alpina*: a) 4x, b) 5x, c) 6x, d) 8x, e) 8x.

Přehled variability cytometrických měření (obr. 7; obr. 8) ukazuje vymezení jednotlivých ploidií a zároveň variabilitu v rámci těchto ploidií.



Obrázek 7: Variabilita cytometrických měření s DAPI. Na ose y je znázorněn poměr pozice vzorku a standardu.

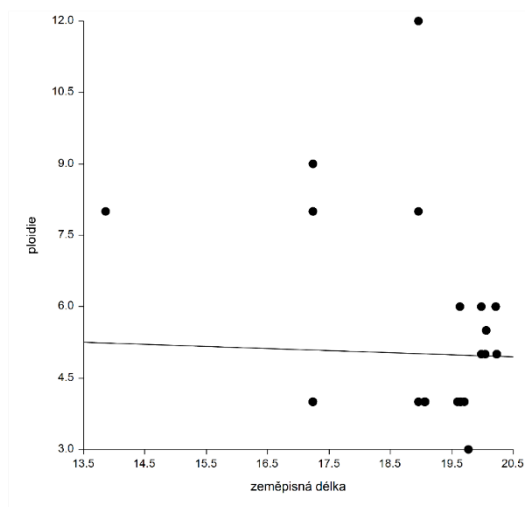


Obrázek 8: Variabilita cytometrických měření s propidium jodidem (PI). Na ose y je znázorněna relativní velikost genomu.

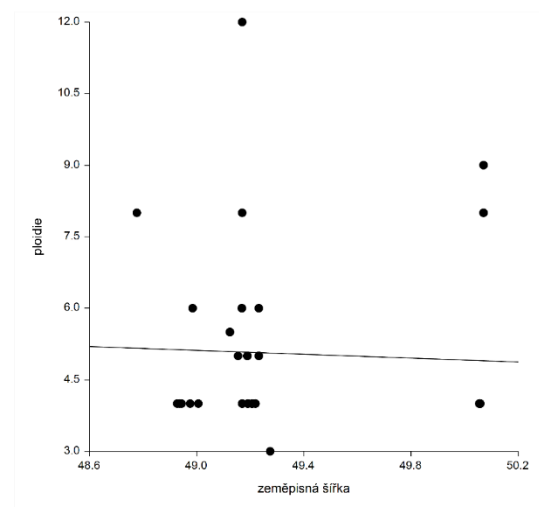
5.2 Korelace mezi ploidií rostliny, schopností tvorby pseudoviviparních/normálních květenství a geografii

5.2.1 Standardní regrese

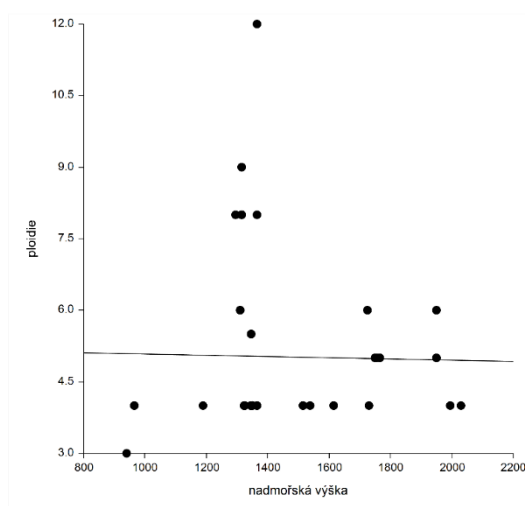
Standardní lineární regresi byla testována závislost ploidie na zeměpisné délce, zeměpisné šířce a nadmořské výšce. Bylo zjištěno, že výskyt jednotlivých ploidiích stupňů nezávisí na zeměpisné délce, zeměpisné šířce a nadmořské výšce (obr. 9).



$b = -0,0444$; $SE = \pm 0,1318$; $T = -0,3368$; $p = 0,7372$



$b = -0,1959$; $SE = \pm 0,4037$; $T = -0,4853$; $p = 0,6289$

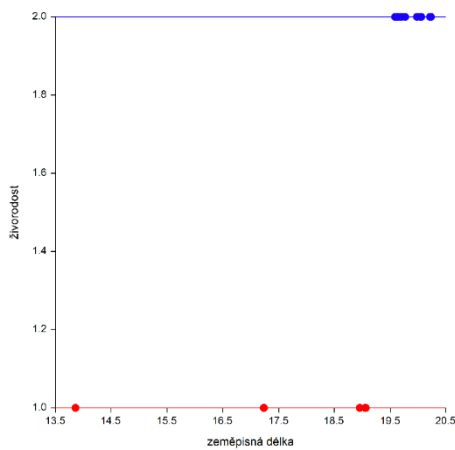


$b = -0,0001$; $SE = \pm 0,0007$; $T = -0,1777$; $p = 0,8594$

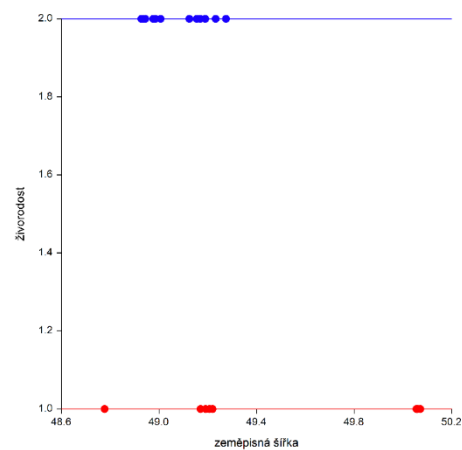
Obrázek 9: Grafy lineární regrese závislosti ploidie na zeměpisné délce, zeměpisné šířce a nadmořské výšce (b – regresní koeficient; SE – směrodatná odchylka; T – výsledek T testu; p – p hodnota).

5.2.2 Logistická regrese

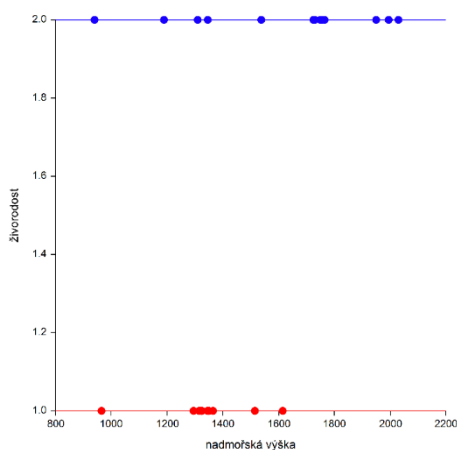
Logistickou regresí byla zjišťována závislost živorodosti na zeměpisné délce, zeměpisné šířce, nadmořské výšce a ploidii (obr. 10). Živorodost závisí na zeměpisné šířce ($p = 0,00450$) a nadmořské výšce ($p = 0,00003$). Živorodé rostliny se více vyskytovaly ve vyšších nadmořských výškách a vyšších zeměpisných šířkách, neživorodé více v nižších nadmořských výškách a nižších zeměpisných šířkách. Živorodost nezávisí na zeměpisné délce a ploidii.



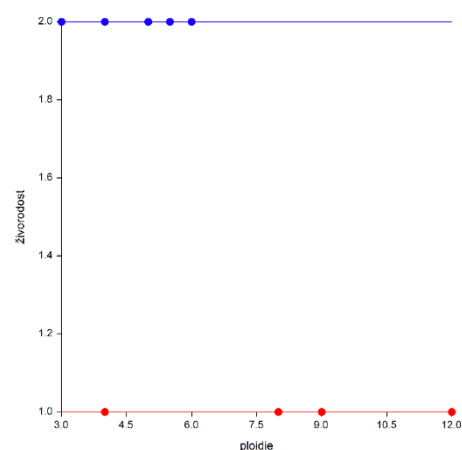
$$b = 2,05832; Sb = 55,87076; H_0: \beta = 0 \text{ } 0,037; p = 0,97061$$



$$b = -6,26452; Sb = 2,20523; H_0: \beta = 0 \text{ } -2,841; p = 0,00450$$



$$b = 0,00620; Sb = 0,00147; H_0: \beta = 0 \text{ } 4,214; p = 0,00003$$



$$b = 0,06149; Sb = 0,14654; H_0: \beta = 0 \text{ } 0,420; p = 0,67476$$

Obrázek 10: Grafy logistické regrese závislosti živorodosti na zeměpisné délce, zeměpisné šířce, nadmořské výšce a ploidii (0 – neživorodé; 1 – živorodé; b – regresní koeficient; Sb – standardní chyba; $H_0: \beta$ – Waldova Z hodnota; p – Waldova p hodnota).

6. DISKUZE

6.1 Výskyt cytotypů

Pomocí průtokového cytometru bylo stanoveno analýzou 77 jedinců z 24 populací z pohoří Západních Karpat a Sudet celkem 6 ploidních úrovní. Nejčastěji se vyskytujícím cytotypem byl tetraploidní (4x), méně často se pak vyskytovaly pentaploidní (5x), hexaploidní (6x) a oktaploidní (8x), a vzácně se vyskytovaly cytotypy triploidní (3x) a dodekaploidní (12x). Pro výskyt tak velkého množství cytotypů existují různé hypotézy. Hypotéza sekundárního kontaktu předpokládá, že vznik polyploidních komplexů byl ovlivněn glaciálními cykly, kdy zalednění oddělilo populace, u kterých po zmizení ledovců docházelo k sekundárnímu kontaktu a následné hybridizaci a polyploidizaci (Stebbins 1984). Takový scénář však předpokládá allopolyploidní vznik jednotlivých cytotypů, zatímco u lipnice alpské je předpokládána autopolyploidie (Müntzing 1940). Brochmann et al. (2004) uvádí, že diploidní rostliny se vyskytují stejně často v boreálních a arktických oblastech, zatímco rostliny vyšších ploidních stupňů úspěšněji osídlily oblasti po zmizení zalednění a polyploidizace je tak pro ně rychlým adaptivním procesem. Další hypotézou je, že množství cytotypů vzniká v reakci na diferenciaci stanovišť (Grime & Hodgson 1987). Distribuce cytotypů může být také ovlivňována využíváním půdy. Ve Švýcarských Alpách bylo zjištěno, že vyšší ploidní úrovně jsou vázány spíše na pastviny a naproti tomu triploidní rostliny se vyskytují spíše na kosených loukách (Spinnler & Stöcklin 2018).

V rámci některých ploidí odhalila cytometrická měření značnou variabilitu v relativní velikosti genomu, což pravděpodobně souvisí s aneuploidii, která je fixována apomixií. Semena lipnice alpské se tvoří sexuálně i apomikticky a u tohoto druhu se vyskytuje velké množství chromozomových čísel. Chromozomová čísla jsou velmi často aneuploidní, a to jak u apomiktických, tak i sexuálně se rozmnožujících rostlin. Navíc se sexuálové a apomikti mohou vyskytovat společně. Apomixie je považována za velmi výhodnou vlastnost. Při společném pěstování apomikticky a sexuálně se rozmnožujících rostlin měli potomci apomiktů výrazně vyšší životaschopnost a produkci semen než sexuálně vzniklí potomci. Sexuálně se rozmnožující rostliny však poskytují zdroj variability a některé z nich jsou také dobře životaschopné (Müntzing

1940). U rostlin produkujících semena bylo také zjištěno, že mohou být fakultativními apomikty a semena u nich tedy mohou vznikat buď sexuálně nebo apomikticky. Při porovnání živorodého rozmnožování s rozmnožováním semeny pak byly hodnoceny jako životaschopnější rostliny produkující semena, což může být způsobeno větší genetickou diverzitou (Steiner et al. 2012).

6.2 Korelace mezi ploidií rostliny, schopností tvorby pseudoviviparních/normálních květenství a geografii

Lineární regrese neodhalila závislost výskytu jednotlivých ploidních stupňů na zeměpisné délce, zeměpisné šířce a nadmořské výšce. Logistická regrese odhalila závislost výskytu živorodosti u rostlin na nadmořské výšce a zeměpisné šířce, kdy se živorodé rostliny více vyskytovaly ve vyšších nadmořských výškách a vyšších zeměpisných šířkách, a naopak neživorodé spíše v nižších nadmořských výškách a nižších zeměpisných šířkách. Závislost výskytu živorodosti na nadmořské výšce u lipnice alpské ve Švýcarských Alpách uvádí Steiner et al. (2012), kdy se pseudoviviparní rostliny vyskytovaly ve vyšších nadmořských výškách a rostliny produkující semena v nižších nadmořských výškách. Potomstvo živorodých rostlin má výhodu v přežívání ve vyšších nadmořských výškách, kde je kratší vegetační sezóna a těžké podmínky, což je pozorováno například u košťavy živorodé (Harmer & Lee 1978). Díky těmto dvěma reprodukčním módům je tak lipnice alpská schopna obsazovat více ekologických nik ve větším rozsahu nadmořských výšek. U živorodosti logistická regrese neodhalila závislost na zeměpisné délce a ploidií.

7. ZÁVĚR

Bylo provedeno mapování cytotypů lipnice alpské v pohořích Západních Karpat a Sudet, díky kterému byla zjištěna přítomnost celkem šesti cytotypů. Z těchto cytotypů se nejčastěji vyskytoval tetraploidní cytotyp, méně pak pentaploidní, hexaploidní a oktaploidní a vzácně pak triploidní a dodekaploidní. Živorodé rostliny byly zaznamenány na Slovensku a v Polsku, zatímco na území České republiky se vyskytují pouze rostliny neživorodé. Cytometrickými měřeními pak byla zjištěna také variabilita v rámci jednotlivých ploidních stupňů. Tento jev pravděpodobně souvisí s aneuploidii fixovanou apomixí.

Z korelací mezi ploidii rostliny, schopností tvorby pseudoviviparních či normálních květenství a geografii byla zjištěna závislost výskytu živorodosti na nadmořské výšce a zeměpisné šířce. Pravděpodobnost výskytu živorodosti roste se stoupající nadmořskou výškou a zeměpisnou šířkou. Živorodost ve vyšších nadmořských výškách je pro rostliny úspěšnější formou rozmnožování oproti tvorbě semen vzhledem ke kratší vegetační době a nepříznivým podmínkám. Žádná závislost naopak nebyla objevena mezi živorodostí a zeměpisnou délkou, živorodostí a ploidii rostliny, ploidii a zeměpisnou délkou, ploidii a zeměpisnou šířkou a ploidii a nadmořskou výškou.

U rozsáhlého polyploidního komplexu lipnice alpské by bylo vhodné rozšířit mapování jednotlivých cytotypů a dále provést počítání chromozomů, které by umožnilo upřesnit chromozomová čísla jednotlivých ploidii a odhalit aneuploidní rostliny, což by přispělo k lepšímu objasnění složitosti rozmnožování u tohoto druhu.

8. LITERATURA

- Ainouche M. L., Baumel A., Salmon A. & Yannic G. (2004): Hybridization, polyploidy and speciation in *Spartina* (*Poaceae*). – *New Phytologist* 161: 165–172.
- Barker M. S., Arrigo N., Baniaga A. E., Li Z. & Levin D. A. (2016): On the relative abundance of autopolyploids and allopolyploids. – *The New Phytologist* 210: 391–398.
- Briggs D. & Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. – Univerzita Palackého, Olomouc.
- Brochmann C., Brysting A. K., Alsos I. G., Borgen L., Grundt H. H., Scheen A.-C. & Elven R. (2004): Polyploidy in arctic plants. – *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 521–536.
- Dančák M., Duchoslav M. & Trávníček B. (2012): Taxonomy and cytogeography of the *Molinia caerulea* complex in central Europe. – *Preslia* 84: 351–374.
- Díaz-Pérez A. J., Sharifi-Tehrani M., Inda L. A. & Catalán P. (2014): Polyphyly, gene-duplication and extensive allopolyploidy framed the evolution of the ephemeral *Vulpia* grasses and other fine-leaved *Loliinae* (*Poaceae*). – *Molecular Phylogenetics and Evolution* 79: 92–105.
- Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – *Nature protocols* 2: 2233–2244.
- Dostál J. (1950): Květena ČSR a ilustrovaný klíč k určení všech cévnatých rostlin, na území Československa planě rostoucích nebo běžně pěstovaných, Díl II. – Přírodovědecké nakladatelství, Praha.
- Dostál J. (1989): Nová květena ČSSR 2. Vol. 2. – Academia, Praha.
- Edmondson J. R. (1980): *Poa* L. – In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M. & Webb D. A. [eds]: *Flora Europaea*. Vol. 5 – Cambridge University Press, Cambridge, 159–167.
- Favarger C. (1984): Cytogeography and Biosystematics. – In: Grant W. F. [eds]: *Plant Biosystematics*. – Academic Press, Canada, 453–476.

- Feldman M. (2001): The origin of cultivated wheat. – In: Bonjean A. & Angus W. [eds]: The World Wheat Book. – Lavoisier Publishing, Paris.
- Fischer M., Weyand A., Rudmann-Maurer K. & Stöcklin J. (2011): Adaptation of *Poa alpina* to altitude and land use in the Swiss Alps. – *Alpine Botany* 121: 91–105.
- Gaut B. S. & Doebley J. F. (1997): DNA sequence evidence for the segmental allotetraploid origin of maize. – *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 6809–6814.
- Gillespie L. J. & Soreng R. J. (2005): A Phylogenetic Analysis of the Bluegrass Genus *Poa* Based on cpDNA Restriction Site Data. – *Systematic Botany* 30: 84–105.
- Goldblatt P. (1980): Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. – In: Lewis W. H. [eds]: *Polyploidy, Biological Relevance*. – Plenum Press, New York.
- Grant V. (1981): *Plant speciation*. – Columbia University Press, New York.
- Grime J. P. & Hodgson J. G. (1987): Botanical contributions to contemporary ecological theory. – *New Phytologist* 106: 283–295.
- Harmer R. & Lee J. A. (1978): The germination and viability of *Festuca vivipara* (L.) Sm. plantlets. – *New Phytologist* 81: 745–751.
- Herben T., Suda J. & Klimešová J. (2017): Polyploid species rely on vegetative reproduction more than diploids: a re-examination of the old hypothesis. – *Annals of Botany* 120: 341–349.
- Hintze J. (2013): NCSS 9. – NCSS, LLC, Kaysville, Utah, USA.
- Hultén E. & Fries M. [eds] (1986): *Atlas of North European vascular plants*. – Koeltz Scientific Books, Königstein.
- Chrtěk J. sen. (2002): *Poa* L. – In: Kubát K., Hrouda L., Chrtěk J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. [eds]: *Klíč ke květeně České republiky*. – Academia, Praha, 835–842.
- Jersáková J., Castro S., Sonk N., Milchreit K., Schödelbauerová I., Tolasch T. & Dötterl S. (2010): Absence of pollinator-mediated premating barriers in mixed-ploidy populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (*Orchidaceae*). – *Evolutionary Ecology* 24: 1199–1218.

- Kelley A. M., Johnson P. G., Waldron B. L. & Peel M. D. (2009): A survey of apomixis and ploidy levels among *Poa* L. (*Poaceae*) using flow cytometry. – *Crop Science* 49: 1395–1402.
- Kellogg E. A. (2001): Evolutionary history of the grasses. – *Plant physiology* 125: 1198–1205.
- Koutecký T. (2019): *Poa alpina* L. – In: Lustyk P. & Doležal J. [eds]: *Additamenta ad floram Reipublicae Bohemicae. XVII. – Zprávy České Botanické Společnosti* 54: 47–148.
- Lavania U. C., Srivastava S., Lavania S., Basu S., Misra N. K. & Mukai Y. (2012): Autopolyploidy differentially influences body size in plants, but facilitates enhanced accumulation of secondary metabolites, causing increased cytosine methylation. – *The Plant Journal* 71: 539–549.
- Levin D. A. (1983): Polyploidy and novelty in flowering plants. – *The American Naturalist* 122: 1–25.
- Levy A. A. & Feldman M. (2002): The impact of polyploidy on grass genome evolution. – *Plant physiology* 130: 1587–1593.
- Lumaret B. R., Bowman C. M. & Dyer T. A. (1989): Autopolyploidy in *Dactylis glomerata* L.: Further evidence from studies of chloroplast DNA variation. – *Theoretical and Applied Genetics* 78: 393–399.
- Masterson J. (1994): Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. – *Science* 264: 421–424.
- Müntzing A. (1933): Apomictic and sexual seed formation in *Poa*. – *Hereditas* 17: 131–154.
- Müntzing A. (1940): Further studies on apomixis and sexuality in *Poa*. – *Hereditas* 26: 115–190.
- Müntzing A. (1954): The cytological basis of polymorphism in *Poa alpina*. – *Hereditas* 40: 459–516.
- Müntzing A. (1980): Mode of propagation and chromosomal peculiarities in Scotch material of *Poa alpina*. – *Hereditas* 92: 291–296.

- Patterson J. T., Larson S. R. & Johnson P. G. (2005): Genome relationships in polyploid *Poa pratensis* and other *Poa* species inferred from phylogenetic analysis of nuclear and chloroplast DNA sequences. – *Genome* 48: 76–87.
- Perný M., Kolarčík V., Majeský L. & Mártonfi P. (2008): Cytogeography of the *Phleum pratense* group (*Poaceae*) in the Carpathians and Panonia. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 157: 475–485.
- Ramsey J. & Schemske D. W. (1998): Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. – *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 467–501.
- Schröter C. (1926): *Pflanzenleben der Alpen*, vol. 2 Auflage. – Verlag A. Raustein, Zürich.
- Soltis D. E. & Soltis P. S. (1999): Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. – *Trends in Ecology & Evolution* 14: 348–352.
- Soreng R. J. (2005): Miscellaneous chromosome number reports for *Poa* (*Poaceae*) in North America. – *Sida* 21: 2195–2203.
- Spinnler F. & Stöcklin J. (2018): DNA-content and chromosome number in populations of *Poa alpina* in the Alps reflect land use history. – *Flora* 246: 102–108.
- Stebbins G. L. (1971): *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. – Edward Arnold, London.
- Stebbins G. L. (1984): Polyploidy and the distribution of the arctic-alpine flora: new evidence and a new approach. – *Botanica helvetica* 94: 1–13.
- Steiner B. L., Armbruster G. J. F., Scheepens J. F. & Stöcklin J. (2012): Distribution of bulbil- and seed-producing plants of *Poa alpina* (*Poaceae*) and their growth and reproduction in common gardens suggest adaptation to different elevations. – *American Journal of Botany* 99: 2035–2044.
- Suda J., Weiss-Schneeweiss H., Tribsch A., Schneeweiss G. M., Trávníček P. & Schönswetter P. (2007): Complex distribution patterns of di-, tetra- and hexaploid cytotypes in the European high mountain plant *Senecio carniolicus* (*Asteraceae*). – *American Journal of Botany* 94: 1391–1401.

- Špryňar P. & Štěpánek J. (2019): *Poa L.* – In: Kaplan Z. et al. [eds]: *Klíč ke květeně České republiky.* – Academia, Praha, 301–307.
- Weiss-Schneeweiss H., Emadzade K., Jang T.-S. & Schneeweiss G. M. (2013): Evolutionary consequences, constraints and potential of polyploidy in plants. – *Cytogenetic and Genome Research* 140: 137–150.
- Zajac A. & Zajac M. [eds] (2001): *Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce.* – Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
- Zhang Y., Xu G., Guo X. & Fan L. (2005): Two ancient rounds of polyploidy in rice genome. – *Journal of Zhejiang University Science B*, 6: 87–90.

PŘÍLOHA 1: Přehled lokalit

Lokalita	Ploidie populace	Živorodost (Ž – živorodé, N – neživorodé)	Počet jedinců	Sběratel
SK, Nízké Tatry, Chata M.R.Štefánika, 48°55'37.829"N, 19°38'57.407"E	4x	Ž	1	B. Brandová
SK, Nízké Tatry, Ďumbier, 48°56'8.836"N, 19°38'21.564"E	4x	Ž	1	B. Brandová
SK, Nízké Tatry, Kamenná chata pod Chopkom, 48°56'36.388"N, 19°35'26.985"E	4x	Ž	1	B. Brandová
SK, Vysoké Tatry, nad vodopádem Skok, 49°9'15.439"N, 20°2'44.748"E	5x	Ž	1	V. Všetická
SK, Oravice, Juráňova dolina, 49°16'26.752"N, 19°46'15.475"E	3x	Ž	1	M. Dančák
PL, Vysoké Tatry, Kasprův vrch, 49°13'54.573"N, 19°58'53.928"E	6x, 5x	Ž	5	M. Dančák
SK, Vysoké Tatry, Skalnaté pleso, 49°11'20.698"N, 20°13'51.455"E	5x	Ž	5	M. Dančák
SK, Malá Fatra, Hromové, 49°11'26"N, 19°3'26"E	4x	N	2	M. Dančák
SK, Malá Fatra, Steny, juž. vrchol, 49°11'27"N, 19°3'33"E	4x	N	1	M. Dančák
SK, Malá Fatra, Steny, sev. vrchol, 49°12'23"N, 19°3'57"E	4x	N	2	M. Dančák
SK, Malá Fatra, Chata na Grúni, 49°13'09. "N, 19°3'12"E	4x	N	5	M. Dančák
CZ, Šumava, Stifterův pomník, 48°46'36"N, 13°51'27"E	8x	N	1	P. Koutecký
SK, Nízké Tatry, na vyhlídce na vrcholu Krakové hoře, 48°59'5"N, 19°37'58"E	6x	Ž	2	M. Sochor

Lokalita	Ploidie populace	Živorodost (Ž – živorodé, N – neživorodé)	Počet jedinců	Sběratel
SK, Nízke Tatry, 1,7 km J od vrcholu Poludnice, 49°00'22"N, 19°38'05"E	4x	Ž	1	M. Sochor
SK, Nízke Tatry, vyhlídka na vrcholu Ohniště, 48°58'32"N, 19°42'21"E	4x	Ž	1	M. Sochor
SK, Malá Fatra, jižní svah vrcholu Suchého, 49°10'11"N, 18°57'22"E	4x, 8x, 12x	N	5	M. Sochor
CZ, Hrubý Jeseník, Velká Kotlina, 50°3'29.257"N, 17°14'14.922"E	4x	N	5	M. Hroneš, M. Dančák, V. Valová
CZ, Hrubý Jeseník, Velká Kotlina, 50°3'30.469"N, 17°14'14.675"E	4x	N	8	M. Hroneš, M. Dančák, V. Valová
CZ, Hrubý Jeseník, okraj cesty nad chatou Ovčárna, 50°4'14.521"N, 17°14'16.153"E	8x	N	6	M. Hroneš, M. Dančák, V. Valová
CZ, Hrubý Jeseník, Velká Kotlina, 50°3'18.029"N, 17°14'4.642"E	4x	N	6	M. Hroneš, A. Uvírová
CZ, Hrubý Jeseník, Velká Kotlina, 50°3'24.759"N, 17°14'7.066"E	4x	N	3	M. Hroneš, A. Uvírová
SK, Vysoké Tatry, Velká studená dolina, 49°10'6.457"N, 20°13'0.878"E	6x	Ž	4	V. Valová
SK, Vysoké Tatry, Skalnaté pleso, 49°11'19.579"N, 20°13'58.960"E	5x	Ž	5	V. Valová
SK, Vysoké Tatry, Štrbské pleso, 49°7'25.706"N, 20°3'36.167"E	5x		5	V. Valová