

**Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty
Univerzity Karlovy v Praze**



Diplomová práce

**Velikost genomu a evoluční trendy rodu
Hieracium L.**

Jaroslav Zahradníček

Školitel

Mgr. Jindřich Chrtek, CSc.

Praha 2008

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracoval samostatně s použitím těch zdrojů, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Jaroslav Zahradníček

Poděkování

Na tomto místě patří velký dík především mému školiteli Jindřichu Chrtkovi který mi svou trpělivostí a ochotou pomohl odhalit taje a zákoutí botanického oboru.

Velký dík jistě patří Judith Fehrer a Karolu Krakovi za poskytnutí výsledků molekulární fylogeneze, bez kterých by práce ztratila významně na kvalitě. Za vstřícný přístup a podmětné rady děkuji zaměstnancům laboratoří průtokové cytometrie Pavlovi Trávníčkovi, Honzovi Sudovi, Petru Vítovi a Tomáši Urfusovi kde probíhala podstatná část mé práce. Nemaleou zásluhu a dík mají všichni ti kdo přispěli ke sběru či identifikaci rostlinného materiálu.

Závěrem své rodině a přátelům kteří mi vytvořili podmínky a přátelskou atmosféru po celou dobu studia na vysoké škole.

Obsah

Abstract	5
1 Úvod	6
2 Cíle	7
3 Charakteristika studovaných skupin	8
3.1 Charakteristika rodu <i>Hieracium</i>	8
3.1.1 <i>Hieracium</i> subgen. <i>Hieracium</i>	9
3.1.2 <i>Hieracium</i> subgen. <i>Chionoracium</i> Schultz-Bip.	9
4 Sběr studovaných rostlin	11
5 Karyologie	12
5.1 Úvod	12
5.2 Metodika	12
5.3 Výsledky	13
5.4 Diskuze	14
6 Reprodukční způsoby	23
6.1 Úvod	23
6.2 Metodika	24
6.2.1 Statistika	25
6.2.2 Posuzování nažek	25
6.3 Výsledky	26
6.4 Diskuze	28
7 Velikost genomu	31
7.1 Úvod	31
7.2 Metodika	32
7.2.1 Statistika	33
7.3 Výsledky	34

Obsah

7.3.1	Genom podrodů <i>Hieracium</i> a <i>Chionoracium</i>	34
7.3.2	Vnitrodruhová variabilita	38
7.3.3	Korelace velikosti genomu s molekulární fylogenezí	43
7.3.4	Korelace velikosti genomu s ploidií, reprodukční strategií a ekologickými faktory	45
7.4	Diskuze	46
7.4.1	Variabilita velikosti genomu rodu <i>Hieracium</i>	46
7.4.2	Vnitrodruhová variabilita	47
7.4.3	Genom, ploidie a reprodukční mechanizmy	49
7.4.4	Velikost genomu ve vztahu k ekogeografickým faktorům	49
7.4.5	Velikost genomu a fylogeneze	50
8	Závěr	53
	Použitá literatura	64
	Seznam obrázků	65
	Seznam tabulek	66
	Přílohy	67
	Seznam příloh	68

Abstract

In this study, 43 „main“ species (Zahn) of the subgenus *Hieracium* and 3 species of the subgenus *Chionoracium* were studied karyologically and cytometrically. Triploid cytotypes predominate in the whole of Europe. Diploid cytotypes are mainly concentrated in specific areas of presumed glacial refugia in southern Europe. Chromosome counts of plants from the subgenus *Chionoracium* are congruent with all values published so far.

The measured monoploid genome size in subgen. *Hieracium* correlated with the concurrently produced molecular phylogeny (ETS), which also separated two main lineages of species that correspond to their geographic distribution. Both these lineages differed significantly in genome size (Cx). On average, members of the „eastern“ group had over 1 pg more DNA members of the „western“ group. Some of the „main“ species were marked as hybridogeneous/hybrid between the two lineages by ETS markers. The genome size of these hybridogeneous species was surprisingly higher than the average genome size of both main lineages. Intraspecies variability in genome size was found in seven species. It has been explained by the presence of populations of hybridogeneous origin, multiple polyploidization events and, in one species, turned out to be a methodical artifact. Both subgenera under study markedly differ in genome size (Cx).

The mode of reproduction was verified for most species. Polyploid species that reproduce apomictically did not show any sign of residual sexuality. Diploid cytotypes of the subgenus *Hieracium*, characterized by sexual reproduction, can be labelled as obligately allogamous. Conversely, members of the subgenus *Chionoracium* show a high degree of autogamy.

Key words: Asteraceae, *Hieracium* subg. *Hieracium*, *Hieracium* subg. *Chionoracium*, apomixis, chromosome number, mode of reproduction, nuclear DNA content, phylogeny.

1 Úvod

Rod *Hieracium* je z mnoha hledisek jiný. Právě svojí jedinečností a dává prostor k nalezení nových přírodních zákonitostí v botanickém oboru. Výjimečnost této entity dokazuje nemalý zájem botanické obce již od poloviny 19. století. Širší poznání mechanismů, tvořících tak komplikovaný celek, však souvisí až s rozvojem nových bio-systematických metod. Bylo by proti mysli zvědavého člověka nevyužít nové technické možnosti a nepřispět alespoň malou měrou k poznání tohoto jedinečného rodu.

Diplomová práce byla zpracována pod záštitou projektu Fylogeneze a evoluční trendy rodu *Hieracium* pod vedením Jindřicha Chrtka. Výstupy molekulárních analýz zajistili Judith Fehrer a Karol Krak.

2 Cíle

- Karyologický průzkum všech analyzovaných druhů.
- Nalézt zastoupení autogamie, případně jiné, dosud neznámé reprodukční strategie (apomixie) u podrodu *Chionoracium* a diploidních cytotypů *Hieracium* s. str. U polyploidních druhů *Hieracium* s. str. nalézt případnou zbytkovou sexualitu.
- Podrobit jednotlivé druhy analýze velikosti genomu a získaná data srovnat s rekonstrukcí fylogenetických vztahů na základě molekulárních markerů a vztáhnout k ekologickým faktorům a dalším získaným datům (reprodukční mechanismy, karyologická data) a pochopit tak základní evoluční procesy a vztahy.

3 Charakteristika studovaných skupin

3.1 Charakteristika rodu *Hieracium*

Rod *Hieracium* L. (Compositae) je taxonomicky komplikovaný rod vytrvalých bylin, který stejně jako několik dalších rodů (*Taraxacum*, *Alchemilla* aj.) již po dlouhá léta spolehlivě zaměstnává desítky botanických nadšenců. Nemalé množství zastoupených druhů (500-10000 podle přijaté taxonomické koncepce) je bezesporu dáno přítomností různých ploidních úrovní a rozmanitých reprodukčních strategií, zahrnujících jak sexuální, tak apomiktické (agamospermické) rozmnožování, typické i pro některé další rody čeledi Compositae. Velký význam pro vznik variability měla a má také rozsáhlá hybridizace.

Při pokusech taxonomicky zhodnotit tuto variabilitu a definovat druh se ustálily dva hlavní přístupy. V prvním pojetí se akceptují tzv. „malé druhy“ (mikrospécie); je to přístup používaný především ve Skandinávii, na Britských ostrovech, na území bývalého Sovětského svazu a byl přijat i některými českými autory (Sell & West 1976, Sell 1987, Dostál 1989). Naopak širší pojetí druhu (který je pak dále členěn na vnitrodruhové jednotky, často až do hodnoty subforem, největší význam ale mají subspecie) je používán především střeoevropskými botaniky (Zahn 1921-1923, 1922-1938, Nägeli & Peter 1885). Druhy v širším pojetí se následně dělí na tzv. hlavní druhy (Hauptarten, species principales, se širokým areálem a dobrou morfologickou diferenciací) a na tzv. vedlejší druhy (Zwischenarten, species intermediae, pravděpodobně hybridního původu, které jsou schematicky řazeny do různé vzdálenosti mezi druhy hlavní na základě jejich morfologické podobnosti.

Rod *Hieracium* je součástí subtribu *Hieraciinae* (tribus *Lactuceae*). Obvykle je členěn do tří navzájem dobře odlišitelných podrodů (morfologicky, ekologicky, způsobem reprodukce), mezi kterými nebyly nalezeny přechodné typy. V rámci Evropy a Asie se vyskytují podrody *Hieracium* a *Pilosella*, na americkém kontinentu pak přibývá třetí podrod *Chionoracium*. Hodnocení těchto jednotek v hodnotě podrodů ale zdaleka není všeobecně a bez výhrad přijímáno. Zástupci podrodů *Pilosella* a *Chionoracium*

byli často zejména na základě morfologických rozdílů oddělováni do samostatných rodů, hlavně v severoevropských a britských studiích; podrod *Chionoracium* byl pak některými autory řazen i do rodu *Crepis* (Sell 1987). V současné době dokončená fylogenetická rekonstrukce subtribu *Hieraciinae* na základě molekulárních markerů (sekvence ITS a ETS úseků jaderné DNA a vybraných úseků chloroplastové DNA) oddělila podrod *Pilosella* do samostatné linie od podrodů *Hieracium* a *Chionoracium* (Fehrer et al. 2007). To vedlo mimo jiné i k přijetí samostatného rodu *Pilosella* i v doposud značně konzervativním středoevropském prostoru (Bräutigam & Greuter 2007). Podrody *Hieracium* a *Chionoracium* tvoří monofyletickou skupinu, každý z obou podrodů je ale polyfyletický (Fehrer et al. 2007 et unpubl.). Předložená studie se zabývá podrody *Hieracium* a *Chionoracium*; souhrnné informace o (pod)rodu *Pilosella* je možné nalézt např. ve studii Krahulcové et al. (2000).

3.1.1 *Hieracium* subgen. *Hieracium*

Podrod zahrnuje nevýběžkaté rostliny s různě hustými jednoduchými (krycími) chlupy, stopkatými žlázkami a hvězdovitými chlupy. Listy jsou obvykle alespoň drobně zubaté, přízemní listy obvykle řapíkaté, v růžici, někdy v době květu již zaschlé, lodyžní listy četné nebo chybějí. Úbory jsou buď jednotlivé na konci lodyhy nebo skládají až mnohoúborné vrcholíky. Zákrovy polokulovité, vejcovité, vejcovitě válcovité až válcovité. Květy jazykovité s plochou nebo zkrácenou zkroucenou ligulou, na vrcholu na zoubcích někdy s ojedinělými až četnými kratičkými chlupy. Nažky 2,5-5,0 mm dlouhé, nahoře s nízkým límečkem, chmýr dvouřadý. Při určování jednotlivých druhů bereme v úvahu celou škálu znaků týkající se zejména typu a hustoty odění, zákrovních listenů, listů přízemní růžice a lodyžních listů (Chrtek 2004). Centra diversity se nacházejí především na horských masívech temperátních oblastí Evropy (Alpy, Pyreneje, Karpaty, Sudetská pohoří a Balkánské hory). Další rozšíření zasahuje na asijský kontinent, do Afriky, Severní Ameriky a některé druhy byly zavlečeny na Nový Zéland (Obr. 3.1). V minulosti bylo navrženo několik členění tohoto podrodu (cf. Stace 1998), mezi nejvýznamnější patří klasifikace uveřejněná Zahnem (1921-1923), která zahrnuje 25 sekcí. Zatím poslední návrh na klasifikaci uveřejnil Stace (1998), vycházel ale v zásadě ze staršího konceptu přijatého v díle *Flora Europaea* (Sell & West 1976).

3.1.2 *Hieracium* subgen. *Chionoracium* Schultz-Bip.

Zástupci tohoto podrodu jsou vytrvalé byliny s přízemními či střídavými lodyžními listy, celistvými či zubatými. Květenství je vrcholíkovité nebo latovité. Zákrovy s jednoduchými chlupy a nebo stopkatými žlázkami, liguly 5 zubé, květy žluté, bílé

3 Charakteristika studovaných skupin

nebo narůžovělé. Tyčinky 1-3,5 mm dlouhé, nažky s 10 žebry na bázi nebo uprostřed zúžené, chmýr jednořadý (Beaman 1990). V současné době přijímaném vymezení je rozšířen v Severní i Jižní Americe a ve východní Asii. Podrod *Chionoracium* je zatím nejméně prozkoumanou skupinou v rámci širokého rodu *Hieracium*. Zahn (1921-1923) člení podrod do 6 sekcí, uznává ale samostatný podrod *Mandonia*, později zřejmě oprávněně přiřazený k podrodu *Chionoracium* (Sleumer 1959). V některých ohledech sporné je i vymezení podrodu – např. většina afrických a evropských zástupců sekce *Tolpidiformia* byla později většinou autorů z rodu *Hieracium* vyřazena. Příkladem může být indický druh *H. silhetense* (DC.) Peter, který našel své místo v asijském rodu *Youngia* (Babcock & Stebbins 1932). Starších studií (kromě Zahnovy monografie) zabývajících se podrodem *Chionoracium* je velmi málo (např. Robin & Green 1904, Blake 1922). Většina prací se pak zabývá diverzitou podrodu v Severní Americe (Fernald 1943, Strother 2006, Gaskin et al. 2007), nověji byl podrod monograficky zpracován i ve střední Americe (Beaman 1990). Naopak téměř neznámá zůstává diverzita této skupiny v Jižní Americe. Většina druhů Severní a střední Ameriky je poměrně dobře rozpoznatelných. Problematické se zdají být pouze některé polymorfní druhy s velkými areály (*H. abscisum*, *H. crepidispermum*, *H. dysonimum*, *H. irasuense*, *H. mexicanum*, *H. pringlei*), kde na jejich okraji, při styku s jinými druhy, pravděpodobně dochází k hybridizaci (Beaman 1990).

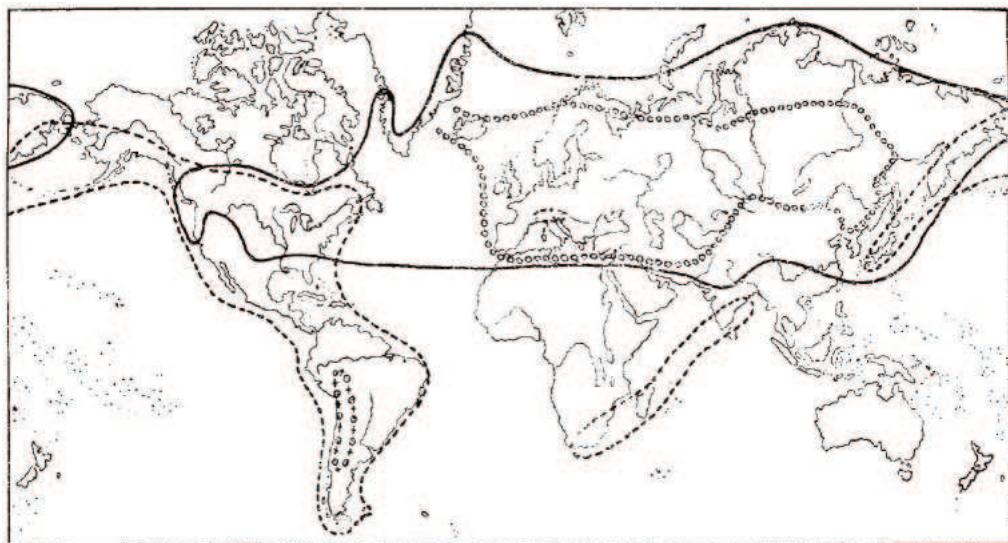


Fig. 3. Areal der Untergattungen von *Hieracium*.

- | | |
|------------|--|
| ————— | Untergattung <i>Eohieracium</i> . |
| - - - - - | » <i>Stenotheca</i> (kleines Areal in den europäischen Alpen). |
| ⊕+⊕+⊕+⊕+⊕+ | » <i>Mandonia</i> . |
| ⊙⊙⊙⊙⊙⊙⊙⊙⊙ | » <i>Pilosella</i> . |

Obrázek 3.1: Areály jednotlivých skupin rodu *Hieracium* dle Zahna (1921-1923)

4 Sběr studovaných rostlin

Vzhledem k obrovské diversitě rodu *Hieracium* a v mnoha případech nejasné evoluční historii tzv. přechodných (hybridogenních) druhů, zahrnuje tato studie pouze tzv. hlavní (z definice nehybridní, což ale zřejmě není zcela pravda) druhy v pojetí Zahnova monografického zpracování rodu (Zahn 1921-1923). Výjimkou jsou druhy sekce *Cerinthoidea* (*H. cerinthoides*, *H. cordifolium*, *H. gouani*, *H. ramondii*, *H. recorderi*), kde je přijato užší pojetí druhů (Mateo 2005). Zahrnuty jsou také dva nově popsané balkánské druhy *H. kittaniae* (Vladimirov 2003) a *H. petrovae* (Vladimirov & Szelag 2006) a jeden balkánský druh *H. plumulosum* (*H. waldsteinii* agg.) který byl zařazen do analýz díky své izolovanosti a diploidnímu počtu chromozomů. Všechny rostliny pocházejí z přírodních populací, byly sebrány v letech 2004–2007 (sběratelé viz Tab. příloha) a následně pěstovány v experimentální zahradě Botanického ústavu AV ČR v Průhonících. Jejich umístění a kultivační podmínky byly průběžně přizpůsobovány ekologickým nárokům a fitnes rostliny. Pouze v případě několika málo populací byly rostliny vypěstovány ze semen, vždy se jednalo o populace kde byla téměř jistě vyloučena možnost mezidruhovému hybridizace (a tudíž hybridního původu semen) a rostliny byly vždy dopěstovány do stádia kvetení. Celkem bylo pěstováno 230 rostlin z 92 populací zastupující 43 zástupců podrodu *Hieracium* a 3 druhy podrodu *Chionoracium*. V rámci projektu „Fylogeneze rodu *Hieracium*“ byl záměr využít stejný soubor rostlin pro studium molekulárních markerů, stanovení počtu chromozomů, velikosti genomu a způsobu reprodukce. I přes veškerou péči byly analýzy některých jedinců znemožněny jejich špatným fyziologickým stavem či totální destrukcí parazitickými houbami, hmyzem či divou zvěří. Analyzované rostliny byly herbarizovány (nebo budou až vykvetou), dokladové položky jsou uloženy v herbáři Botanického ústavu AV ČR (PRA).

5 Karyologie

5.1 Úvod

Pro celý komplex *Hieracium* s.l. je základní chromozómové číslo $x = 9$, charakteristické i pro celou řadu rodů čeledě Asteraceae (*Achillea*, *Artemisia*, *Lactuca* atd.). Jednotlivé skupiny (*Hieracium* subgen. *Hieracium*, *Hieracium* subgen. *Chionoracium* a *Pilosella*) se ale zásadně liší v zastoupení diploidních a polyploidních druhů/cytotypů v rámci druhů. Většina zástupců podrodu *Hieracium* jsou polyploidi, na evropském území jsou nejčastější triploidi (ve střední Evropě jsou zastoupeni asi ze 70 % , Schuhwerk & Lippert 1999). Tetraploidi jsou vzácnější a pentaploidní druhy byly zjištěny jen velmi vzácně. Velkým překvapením je publikace hexaploidního a dokonce oktoploidního chromozómového počtu u druhu *H. virosum* (Pulkina & Tupitsyna 2000). Diploidní druhy, či diploidní cytotypy jinak polyploidních druhů jsou zastoupeny pouze v menšině, a to zpravidla ve vztahu k určité geografické oblasti. Takovou oblastí je např. jihozápadní Evropa, kde Pyrenejský poloostrov a jeho přilehlá území jsou areálem výskytu diploidních zástupců sekce *Cerinthoidea* (Mateo 1996, Mateo 1998). Pohoří Balkánského poloostrova jsou významným refugiem sexuálních druhů jako *H. kittaniae*, *H. petrovae*, *H. sparsum* a *H. transylvanicum* (Rosenberg 1927, Christoff 1942, Vladimirov 2003, Vladimirov & Szelag 2006, Chrtek et. al 2007). Jediným široce rozšířeným diploidním druhem je *H. umbellatum*, jehož místo je i v české květeně (Schuhwerk 1996).

Chromozomová čísla podrodu *Chionoracium* nevykazují žádnou variabilitu, a to ani v oblastech kde jednoznačně dochází ke křížení druhů. Všechna doposud spočítaná chromozomová čísla byla $2n = 18$ (Zahn 1921-1923, Beaman 1990).

5.2 Metodika

Chromozómy byly počítány klasickou metodou dočasných roztlakových preparátů, k níž byly zapotřebí kořenové špičky s aktivním meristematičtým pletivem (mléčné zakalené konce kořínků). Ideální bylo provádět odběry v časných ranních hodinách, kdy je aktivita meristemu nejvyšší. Kvůli nedostatku vhodných kořínků bylo někdy potřeba

aktivně pomoci při jejich tvorbě (přesazování, hydroponie). Od hydroponní metody bylo později upuštěno, kvůli velké mortalitě. Odebrané kořínky byly po dobu 3-4 hodin za pokojové teploty podrobeny předpůsobení nasyceným roztokem p - dichlorbenzenu. Posléze byly důkladně propláchnuty fixačním roztokem (kyselina octová a ethanol v poměru 1:3) a fixovány přibližně 12h při teplotě 4 °C. Fixované kořínky byly skladovány v 70% ethanolu. Před vlastní přípravou roztlakových preparátů byly macerovány po dobu 7-9 min v 1N roztoku HCl při teplotě 60°C ve vodní lázni a následně zpracovány metodou roztlakových preparátů. K barvení byl použit lacto-propion orcein (Dyer 1963). Chromozómy byly počítány pod světelným mikroskopem za použití imerze při zvětšení 1000x, přičemž hodnoty byly zjištěny vždy u každé populace pro minimálně dvě rostliny.

5.3 Výsledky

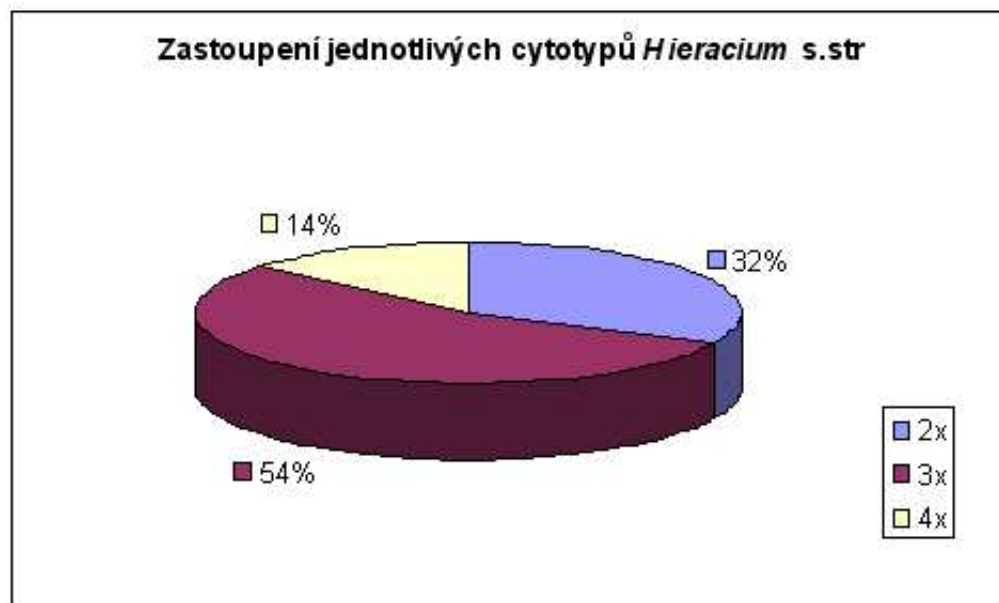
V rámci projektu zaměřeného na fylogenezi rodu *Hieracium* byl zjištěn počet chromozomů u rostlin z 90 populací patřících k 44 druhům (viz Tab. 7.2). Na počítání se ale podílelo více autorů, a proto jsou v tabulce č. 5.1 této diplomové práce uvedeny pouze počty zjištěné J. Zahradníčkem. V kapitole „diskuse“ jsou ale zohledněny všechny zjištěné počty.

Tabulka 5.1: Chromozómové počty zjištěné autorem předložené práce.

Druh	Označení rostliny	Lokalita	2n
<i>H. alpinum</i> L.	H 1067/2, 4	Ukr: Maramureš	18
<i>H. amplexicaule</i> L.	H 354	Esp: prov. Gerona	27
<i>H. amplexicaule</i> L.	P 1366	Fra: Hautes Alpes	27
<i>H. caesium</i> (Fr.) Fr.	H 1227/1	Swe: prov. Gästrikland	36
<i>H. glaucum</i> All.	H 1232/2	Slo: Julijske Alpe	27
<i>H. humile</i> Jacq.	H 1064/3	Aut: Dachstein massif	36
<i>H. murorum</i> L.	H 875/4, 8	Cze: Plzeň	27
<i>H. pannosum</i> Boiss.	H 1205/1	Blg: Trojanska Planina	27
<i>H. prenanthoides</i> Vill.	H 1161/2	Pol: Karkonosze	27
<i>H. racemosum</i> Waldst. et Kit. ex Willd.	H 1220/3	Sk: Gemer	27
<i>H. sabaudum</i> L.	H 1163/3	Cze: Praha	27
<i>H. scabrum</i> Froel. ex DC.	H 1002/2	USA: Michigan	18
<i>H. schmidtii</i> Tausch	H 1151/4	Cze: Křivoklátsko	27
<i>H. tomentosum</i> L.	H 1066/8	Fra: dépt. Alpes Maritimes	18
<i>H. transsilvanicum</i> Heuff.	H 1077/10	Ukr: Maramureš	18
<i>H. villosum</i> Jacq.	H 1029/1	Sk: Srážovské vrchy	36

5.4 Diskuze

V rámci řešení diplomové práce byl zjištěn počet chromozomů u 16 populací řazených k 15 druhům. V rámci projektu „Fylogeneze rodu *Hieracium*“ pak byl počet chromozomů stanoven u celkem 90 populací, patřících k 44 druhům (Chrtek et al. 2007 a Chrtek et al. 2008 - viz příloha). Byly zjištěny tři počty chromozomů – $2n = 2x = 18$, $2n = 3x = 27$ a $2n = 4x = 36$, u 9 druhů byly nalezeny dva cytotypy (6 v kombinaci $3x/4x$ a 3 v kombinaci $2x/3x$), vždy se ale jednalo o mezipopulační diferenciace, nikoliv variabilitu v rámci jedné populace. U 7 druhů (*H. gouanii*, *H. gymnocerinthe*, *H. pictum*, *H. ramondii*, *H. recoderi*, *H. stelligerum*, *H. tomentosum*) jde o první stanovení počtu chromozomů, u dalších 3 druhů (*H. gymnocephalum*, *H. humile*, *H. lawsonii*) byl poprvé zjištěn doposud nepublikovaný cytotyp. Nejvíce studovaných taxonů bylo triploidních (54 %), méně diploidních (32 %) a spíše výjimečně byl zjištěn tetraploidní počet (14 %, Obr. 5.1). Dále jsou stručně diskutovány zjištěné počty chromozomů u jednotlivých druhů, u druhů s mnoha dříve publikovanými počty jsou někdy zmíněny pouze souborné indexy chromozomových počtů.



Obrázek 5.1: Zastoupení jednotlivých cytotypů hlavních druhů podrodu *Hieracium*.

- *H. alpinum* L. $2n = 18, 27$ (Chrtek et al. 2008)

Druh s velkým, ale značně disjunktním areálem známý především jako triploid ($2n = 27$) (Skawińska 1963, Měsíček in Měsíček & Jarolímová 1992, Chrtek 1997, 2004). Nález tetraploidního cytotypu ze západních Tater publikovali Szelağ & Jankun (1997).

Zdá se že diploidní cytotyp je omezen pouze na východní (Chrtek 1997) a jižní Karpaty (Mráz 2003). Zvláštností je zde bezesporu nález aneuploidie (Sokolovskaya & Strelkova 1960) ze severozápadního Ruska.

- *H. amplexicaule* L. $2n = 27, 36$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

U tohoto druhu rozšířeného především ve střední a jižní Evropě (zasahuje i na africký kontinent) jsou známy tři cytotypy ($2n = 18, 27, 26$). Nejrozšířenější triploidní cytotyp je pro subsp. *amplexicaule* dokumentován z Pyrenejí (Schuhwerk & Lippert 1998), a jižního Španělska (Cueto Romero & Blanca López 1986). Stejný počet je publikován pro subsp. *olivicolor* z Maroka (Vogt & Oberprieler 1994), nejnovější nález pak pochází z Baleárských ostrovů (Castro et al. 2007). Tetraploidní rostliny uvádějí Gentcheff & Gustafsson (1940) a Quézel (1957). Existuje pouze jediný záznam diploidního počtu chromozómů ze Španělska (Castro et al. 2007).

- *H. bifidum* Kit. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

H. bifidum je především horský druh střední Evropy se širokou ekologickou amplitudou, který se vyskytuje hlavně jako triploidní cytotyp (Májovský 1970, Natarajan 1988, Mráz & Szelağ 2004). Je ale dokumentován i případ diploidních (Rosenberg 1927) a tetraploidních (Mráz & Szelağ 2004, Chrtek 2004) rostlin.

- *H. bracteolatum* Sibth. & Sm. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

Pro tento balkánský druh jsou uváděny převážně triploidní počty ($2n = 27$). Schuhwerk & Lippert (1999) uvádí $2n = 27$ a 36 pro *H. bracteolatum* subsp. *reinholdii*. Pro stejný poddruh uvádí triploidní počet i Strid & Franzen (1981). Všechny záznamy pochází z Řecka.

- *H. bupleuroides* C. C. Gmel. subsp. *bupleuroides* $2n = 27$, subsp. *leviceps* Nägeli & Peter $2n = 27$, subsp. *tatrae* (Griseb.) Nägeli & Peter $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007, Chrtek et al. 2008)

Převažující triploidní počet ($2n = 27$) publikoval pro subsp. *bupleuroides* a pro subsp. *tatrae* Chrtek et al. (2004) ze západních Tater. Další záznamy triploidního počtu jsou hojně dokumentovány z Alp (Polatchek 1966, Schuhwerk & Lippert 1999, subsp. *bupleuroides*). Tetraploidní rostliny jsou již méně hojné. Niketić et al. (2003, 2006) nalezl $2n = 36$ v Černé Hoře, Chrtek et al. (2004) v západních Tatrách a Szelağ & Vladimirov (2005) v jižním Polsku.

- *H. caesium* agg.
- *H. basifolium* (Fr. ex Almq.) Lönnr. (*H. caesium* subsp. *basifolium* sensu Zahn) $2n = 36$, *H. plumbeum* Fr. (*H. caesium* subsp. *caesium* sensu Zahn) $2n = 36$

Chromozómové počty tohoto patrně uniploidního druhu (agg.) dokumentovali pouze Schuhwerk & Lippert (1999) pro subsp. *caesium* a subsp. *cornosum* (Wiesb. ex Dichtl) z oblasti rakouských a německých Alp.

- *H. cerinthoides* L. s. str. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007)

Delay (1969) publikoval diploidní počet ($2n = 18$). Vzhledem k velké variabilitě této skupiny se ale může jednat i o jiný taxon sekce *Cerinthoidea*.

- *H. cordifolium* Lapeyr. s. str. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

U druhu soustředěného výskytem do JZ Evropy (stejně jako celá sekce *Cerinthoidea*), existuje jediný záznam di- (subsp. *neocerinthe* (Fr.)) i triploidního (subsp. *eriocerinthe*) počtu chromozómů (Schuhwerk & Lippert 1999).

- *H. eriophorum* St.-Amans $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

Stejný počet chromozómů $2n = 18$ u rostlin z Francie publikoval Merxmüller (1975).

- *H. glaucum* All. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007, Chrtek et al. 2008)

Zjištěný počet se shoduje s dříve publikovanými údaji z Rakouska (Polatschek 1966), Itálie (Scannerini 1971) a Německa (Schuhwerk & Lippert 1999). Jiné cytotypy nejsou prozatím známy.

- *H. gouanii* Arv.-Touv. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

Jedná se o první údaj o počtu chromozómů.

- *H. gymnocephalum* Griseb. ex Pant. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2008)

Tento druh byl dosud znám pouze jako triploid (Niketić et al. 2006). Jde tedy o první nález diploidního cytotypu; taxonomicky jde ale o poměrně komplikovaný druh (agregát) a bude potřeba zjistit vztah mezi ploidní úrovní a morfologicky definovanými jednotkami. Diploidní cytotyp byl v sekci *Pannosa* publikován zatím pouze u *H. petrovae* (Vladimirov & Szelag 2006).

- *H. gymnocerinthe* Arv.- Touv. & Gaut. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007)

Tento pyrenejský druh, morfologicky velmi podobný *H. ramondii*, bývá často klasifikován jako poddruh *H. cerinthoides*. Dá se předpokládat že jde o první zjištění chromozómového počtu.

- *H. heterogynum* (Froel.) Guterm. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

Pravděpodobně první údaj o počtu chromozomů.

- *H. humile* Jacq. $2n = 27, 36$ (Chrtek et al. 2007)

Zatím byl u tohoto alpského druhu znám jen triploidní cytotyp (subsp. *pseudocottetii* (Zahn) Zahn, Schuhwerk & Lippert 1999).

- *H. kittaniae* Vladimír. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

Nedávno popsáný reliktní druh *H. kittaniae* z jižního Bulharska je charakteristický jen diploidním chromozómovým číslem (Vladimirov 2003).

- *H. lachenalii* Suter $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

U tohoto variabilního celoevropsky rozšířeného lesního druhu je uváděn většinou triploidní cytotyp (mnoho referencí uvádí Chrtek et al. 2004). Jediný údaj dokumentuje tetraploidní rostliny (Lavrenko & Serditov 1987). Též je zde publikován případ aneuploidie ($2n = 28$; Rostovtseva 1983; považováno za *H. tilingii* Juxip).

- *H. laevigatum* Willd. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Druh osídlující celou Evropu je znám převážně triploidními ($2n = 27$) cytotypy, uváděny jsou ale i diploidní rostliny (Schuhwerk 1996 a mnoho jiných chromozómových indexů).

- *H. lawsonii* Vill. s.l. $2n = 27, 36$ (Chrtek et al. 2008)

U tohoto druhu rozšířeného v oblasti Pyrenejského poloostrova a jihozápadních Alp je doposud velmi málo údajů dokumentujících chromozómové počty. Schuhwerk & Lippert (1998) publikovali triploidní počet u *H. lawsonii* subsp. *aemuliflorum*. Zdá se tedy, že se jedná o první nález tetraploidního cytotypu.

- *H. murorum* L. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007)

Převážně jsou uváděny triploidní rostliny ($2n = 27$, mnoho záznamů uvádí např. Schuhwerk 1996). Tetraploidní počet je vzhledem k množství $2n = 27$ záznamů uváděn jen vzácně (Schuhwerk & Lippert 1998).

- *H. naegelianum* Pancic $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007)

Stejná chromozómová čísla tohoto balkánského druhu publikoval Niketić et al. (2003, 2006) a Vladimirov & Szelağ (2001).

- *H. olympicum* Boiss. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007)

Stejný počet publikovali Vladimirov & Szelağ (2001).

- *H. pannosum* Boiss. $2n = 27, 36$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Nález obou cytotypů tohoto druhu sekce *Pannosa* odpovídá dosavadním údajům z Řecka (Papanicolau 1984). Samotný tetraploidní počet z Bulharska uvádějí Vladimirov & Szelağ (2001). Triploidní počet z Řecka zase Strid & Franzén (1981) a Schuhwerk & Lippert (1998).

- *H. petrovae* Vladimirov & Szelağ $2n = 18$

Tento vápnomilný skalní druh je společně s *H. gymnocephalum* (v této studii objeveným) jediným diploidním druhem sekce *Pannosa*. Uváděný chromozómový počet souhlasí s dosud jediným údajem z jižního Bulharska (Vladimirov & Szelağ 2001).

- *H. pictum* Pers. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

Zdá se, že jde o první dokumentaci chromozómového počtu tohoto značně variabilního alpského druhu.

- *H. piliferum* Hoppe $2n = 27, 36$ (Chrtek et al. 2008)

Námi nalezené chromozómové počty odpovídají publikovaným údajům. Schuhwerk & Lippert (1999) našli ve Švýcarských Alpách tetraploidní cytotyp pro *H. piliferum* subsp. *hololeptum*. Triploidní cytotyp stejného poddruhu z Alp uvádí Scholte (1977).

- *H. pilosum* Schleich. ex Froel. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

Podobně jako *H. villosum* roste hlavně ve vyšších polohách evropských vápencových pohoří. Stejná chromozómová čísla $2n = 27$ zveřejnili Moore (1982) a Chrtek et al. (2004) z oblasti Západních Tater. Tetraploidní počet našli Christoff & Popoff (1933).

- *H. porrifolium* L. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Převážně alpský a s největší pravděpodobností pouze diploidní druh; publikované počty pocházejí z Julských Alp (Favarger 1965) a ze SV Itálie (Marcucci & Tornadore 1999).

- *H. prenanthoides* Vill. $2n = 18, 27$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Horský druh s velkým areálem, sahajícím od Pyrenejí po pohoří v mírném pásu Asie. Velmi zajímavý je zjištěný diploidní počet u rostlin ze západních Alp (Hautes Alpes) – z tohoto území byli sice diploidi již dříve uváděni (Favarger 1969a, b), údajům ale nebyla věnována přílišná pozornost a snad se jim ani příliš nevěřilo. Zdá se, že právě francouzské Hautes Alpes jsou jedinou oblastí výskytu diploidů, rostliny z jiných evropských pohoří jsou tri- nebo tetraploidní (souhrn publikovaných údajů viz Chrtek et al. 2007).

- *H. racemosum* Waldst. et Kit. ex Willd. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

U tohoto široce rozšířeného, spíše teplomilného druhu jsou známy tři cytotypy (2x, 3x, 4x), výrazně ale převažují nálezy triploidů. Zatím první údaj o diploidním počtu pochází z rakouských Alp, ze smíšené populace di- a triploidů (Schuhwerk & Lippert 1999). První nález tetraploidního cytotypu publikoval Merxmüller (in Moore 1982).

- *H. ramondii* Griseb. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007)

U tohoto druhu patřícího do sekce *Cerinthoidea* jde o první zjištění chromozómového počtu.

- *H. recoderi* De Retz $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

Druh známý pouze z několika málo míst v severním Katalánsku (De Retz 1978). Chromozómová čísla pro tento druh doposud nebyla publikována. V sekci *Cerinthoidea* je však nalezený počet ($2n = 18$) více než častý.

- *H. schmidtii* Tausch $2n = 27$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Námi zjištěné počty korespondují s běžně uváděnými údaji. Častěji publikovaný cytotyp ($2n = 27$) našel Chrtek (1996) v Krkonoších, Castro et al. (2007) ve Španělsku a Schuhwerk & Lippert (1999) v Německu. V posledním případě byly druhy identifikovány jako *H. schmidtii* subsp. *comatulum* a subsp. *kalmutinum*. Tetraploidní počet uvádějí Měsíček & Jarolímová (1992) ze středních Čech a Castro et al. (2007) ze Španělska.

- *H. sabaudum* L. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

Pro tento široce rozšířený evropský druh jsou známy všechny běžně se vyskytující ploidní úrovně (2x, 3x, 4x) (např. Schuhwerk 1996, Májovský et al. 1987). Údaje o diploidech jsou ale velmi vzácné, a zřejmě jde o záměny s netypickými morfotypy jinak běžně diploidního druhu *H. umbellatum*.

- *H. sparsum* Friv. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2008)

Druh balkánských hor u něhož většina publikovaných počtů dokumentuje diploidní jedince. Více údajů pochází z Bulharska (Vladimirov 2000, Vladimirov & Szelağ 2001), nejnověji byli diploidi zjištěni i v Srbsku (Szelağ 2007). Jediný případ triploidních rostlin pochází z Makedonie (Schuhwerk & Lippert 1998).

- *H. stelligerum* Froel. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

Pro tento skalní druh s malým areálem v jižní Francii severně od města Montpellier se jedná o první údaj o počtu chromozomů.

- *H. tomentosum* L. $2n = 18, 27$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Pro tento významný zejména alpský druh nebyly překvapivě doposud známá žádná chromozómová čísla. Zatímco diploidní počet pochází z Přímořských Alp, triploidní rostliny byly nalezeny v okolí města Briancon ve francouzských Hautes Alpes. Podrobnější rozšíření obou cytotypů ale zatím není známo.

- *H. transylvanicum* Heuff. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

S velkou pravděpodobností výhradně diploidní druh, rozšířený zejména ve Východních a Jižních Karpatech a v pohořích Balkánského poloostrova. Záznamů dokumentujících diploidní počet je mnoho (např. Rosenberg 1927, Pashuk 1987, Chrtek 1996, Mráz et al. 2005).

- *H. umbellatum* L. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007, 2008)

Velké množství záznamů dokumentuje jak diploidní tak triploidní cytotypy (např. Májovský et al. 1987, Schuhwerk 1996).

- *H. villosum* Jacq. $2n = 27, 36$ (Chrtek et al. 2008.)

Druh stejně jako *H. pilosum* osídluje nejvyšší polohy středoevropských pohoří; je vázán na zejména na krystalické vápence a dolomity. Nejrozšířenějším cytotypem je triploidní, tetraploidní je méně častý, diploidi nebyli zatím zjištěni (Schuhwerk 1996, Chrtek et al. 2004) Z rakouských Alp je také zaznamenána aneuploidie u dvou zkoumaných rostlin (Polatschek 1966).

- *H. viosum* Pall. $2n = 27$ (Chrtek et al. 2008)

Hlavně 3x (Belaeva & Siplivinsky 1976, Volkova & Boyko 1986) a 4x (Christoff & Popoff 1933, Astanova et al. 1989) ploidní stupně byly nalezeny v Rusku. Pulkina & Tupitsyna (2000) dokonce našly pentaploidní a oktoploidní počet chromozomů.

H. waldsteinii agg.

- *H. plumulosum* A Kern. $2n = 18$ (Chrtek et al. 2007)

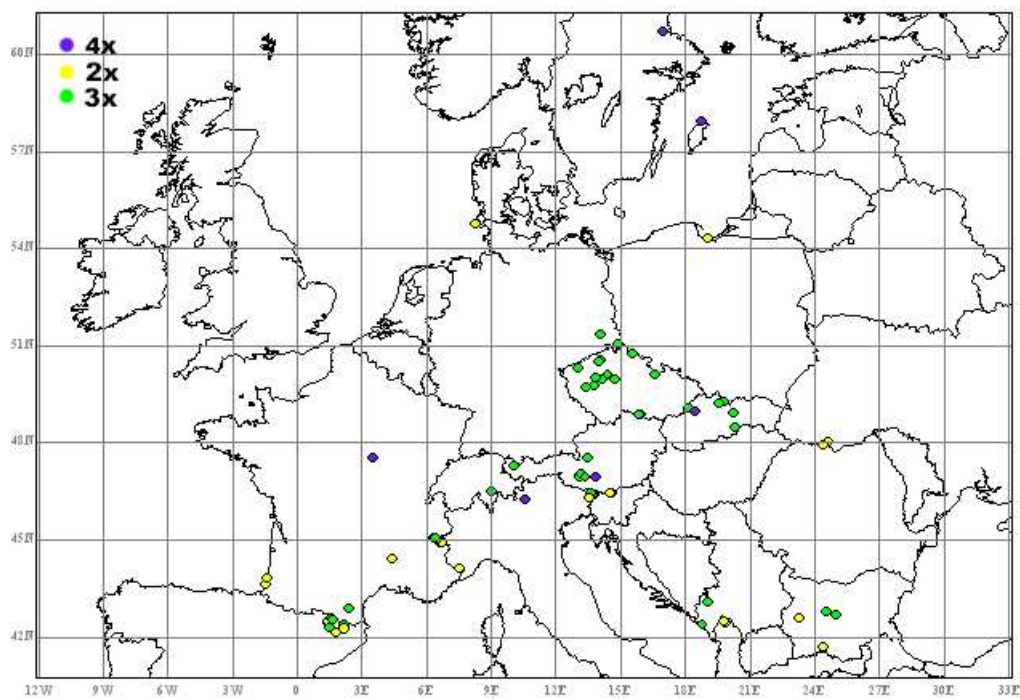
Pro tento agregát *H. waldsteinii* uvádí Schuhwerk (1996) všechny tři cytotypy ($2n = 18, 27, 36$). První nález diploidního chromozomového čísla druhu *H. plumulosum* z Černohorského pohoří Sinjajevina publikoval Szelağ et al. (2007).

Chionoracium Schultz-Bip.

- *H. scabrum* Froel. ex DC. $2n = 18$

Chromozómové počty tohoto druhu nebyly doposud publikovány. Spočtený diploidní počet ($2n = 18$) odpovídá všem dosud nalezeným počtům (např. Schuhwerk 1996).

Ukazuje se, že zastoupení diploidních druhů a cytotypů multiploidních „hlavních“ druhů je poněkud vyšší než se předpokládalo. V rámci projektu „Fylogeneze rodu *Hieracium*“ byl poprvé zjištěn diploidní počet u druhů *H. tomentosum*, *H. stelligerum*, *H. gymnocephalum* a byly zjištěny nové lokality dříve uváděných diploidních taxonů. Vladimirov & Szelağ (2006) rozlišili diploidní druh *H. petrovae*, Vladimirov (2003) popsal diploidní *H. kittaniae*. Všechny zmíněné druhy jsou soustředěny do refugií na Balkánském poloostrově a v JZ Evropě (Obr. 5.2). Jedinou výjimkou (bereme-li v úvahu jen druhy „hlavní“) je *H. umbellatum* rozšířené od polárního kruhu po Pyrenejský poloostrov, roste i na většině plochy severoamerického kontinentu včetně Grónska. Zajímavé je také to, že jeho polyploidní cytotyp je rozšířen v mnohem menší míře. Tento výjimečně velký areál (vzhledem k ostatním diploidním druhům) je bezesporu výsledkem jeho velké konkurenceschopnosti. Tato úvaha je však v rozporu z obecnými závěry že diploidní druhy jsou méně konkurence schopné než polyploidní. Tak je tomu ostatně u většiny druhů podrodu *Hieracium*, kde mají diploidní druhy pozici lokálních endemitů (Vladimirov 2003) nebo jsou rozšířené jen velmi omezeně.



Obrázek 5.2: Mapa rošíření cytotypů „hlavních“ druhů.

6 Reprodukční způsoby

6.1 Úvod

Rod *Hieracium* v širokém pojetí (incl. *Pilosella*) je znám velkou diversitou reprodukčních způsobů a strategií. Jednotlivé skupiny (*Hieracium* subgen. *Hieracium*, *Hieracium* subgen. *Chionoracium* a *Pilosella*) se ale v tomto značně liší. V podrodu *Hieracium* způsob rozmnožování úzce souvisí s ploidní úrovní. U diploidních rostlin byl prokázán pohlavní způsob rozmnožování, kdy dochází ke splynutí dvou haploidních gamet v diploidní zygotu (Gustafsson 1974). Předpokládá se, že většina těchto rostlin bude současně obligátně allogamická, experimentálně to bylo zjištěno ale zatím pouze u několika druhů/cytotypů, např. u *H. alpinum* (Chrtek 1997) a *H. umbellatum* (Mráz 2003). Autoinkompatibilita (SI), známá také u mnoha jiných rodů, tak snižuje riziko inbreedingu a zvyšuje genetickou variabilitu. Ne vždy je ale „obligátní“ allogamie výhodou. V situacích, kdy v měnících se podmínkách prostředí dojde ke snížení množství jedinců v populaci, může samoopylení zabránit zániku populace. V rodu *Hieracium* byla zjištěna porucha autoinkompatibility vlivem pylu jiného druhu nebo faktoru prostředí (tzv. mentor effects, Richards 1997). Mráz (2003) spolu experimentálně křížil jednak dva diploidní duhy, jednak diploidní (jako samičí rostliny) a polyploidní druh. Při smíšení pylu *H. alpinum* s jiným diploidem vzniklo 19% autogamických potomků, při jeho křížení s polyploidem pak 100% autogamických potomků. Jedná se tedy o první doklad poruchy autoinkompatibility u podrodu *Hieracium* s.str. (Mráz 2003). Oproti tomu u polyploidních zástupců (3x, 4x, 5x) byla doposud zjištěna pouze apomixe (agamospermie), spojená s partenogenetickým vznikem zygoty z neoplozené neredukované vaječné buňky. Mechanismus apomixe u této skupiny je označován jako diplosporie typu *Antennaria* (Bergman 1941, Skawinska 1963, Gustafsson 1974, Nogler 1984), při které je porušeno meiotické dělení mateřské buňky megaspor a vzniká tak neredukovaný zárodečný vak. Některé studie ale přesto připouštějí možnost zbytkové sexuality i u polyploidních druhů (Bergman 1941). U triploidních jedinců dochází většinou i k poruše mikrosporogeneze, kdy pylová zrna často vůbec nevznikají. Tetraploidní jedinci pyl produkují většinou v dost omezené míře, jeho účast při sexuálním rozmnožování však zatím nebyla dokumentována. V současnosti víme, že

u apomiktických druhů je variabilita fixována a tím jsou jednotlivé taxony poměrně dobře vymezeny.

Podrod amerických jestřábníků *Chionoracium* se zdá být (dostupných údajů je ale zatím velmi málo) výhradně sexuálně se rozmnožující skupinou. Na rozdíl od podrodu *Hieracium* tu ale není úplně jasné zastoupení a role autogamie. Beaman (1967-1968) sice izolací úborů u druhu *H. sphagnicola* přítomnost autogamie neodhalil, u *H. mexicanum* ale vznik plných nažek po izolaci poukazuje na možnost autogamie. V případě *H. mexicanum* se však mohlo jednat (i když je to dost nepravděpodobné) o fertillní nažky vzniklé apomikticky. Sole (1988) uskutečnil stejný experiment u *H. mexicanum* a *H. abscissum*. V něm byly u *H. mexicanum* získány pouze sterillní nažky, *H. abscissum* produkovalo nažky fertillní. Zdá se tedy, že zastoupení autogamie je u podrodu *Chionoracium* vyšší než u „pravých“ jestřábníků.

Blízce příbuzný rod *Pilosella* se zastoupením jak sexuálních, tak i apomiktických typů blíží spíše podrodu *Hieracium*, podíl sexuality je tu ale mnohem vyšší a zbytková sexualita byla prokázána i u apomiktů (na rozdíl od *Hieracium* subgen. *Hieracium* je tu ale jiný mechanismus apomixe, tzv. aposporie, při které souběžně s apomiktickým zárodečným vakem vzniká i meiotický zárodečný vak (Rosenberg 1907, Pogan & Wcislo 1989)).

6.2 Metodika

Způsob reprodukce byl zjišťován u vybraných pěstovaných rostlin každého druhu, vždy byly přitom zahrnuty rostliny odebírané na molekulární analýzy a stanovení velikosti. U testovaných rostlin by také (až na výjimky, kdy byl zjištěn u jiných rostlin z téže populace) zjištěn počet chromozomů. Záměrem bylo potvrdit apomiktický způsob reprodukce u polyploidních rostlin (případně zjistit zbytkovou sexualitu), a alogamii (příp. míru autogamie) u diploidních sexuálních druhů. Byla použita metoda izolace nebo kastrace úborů (Gadella 1987, Krahulcová & Krahulec 1999) a srovnání s počtem plných nažek z volného sprášení. Diploidní zástupci obou podrodů byli testováni na přítomnost autogamie (za předpokladu vyloučení možnosti apomixe):

1. Náhodně vybrané zatím nerozkvetlé úbory byly izolovány pomocí monofilových sáčků. Experimentální opylování v rámci květů/úboru nebylo prováděno, tj. získaná data ukazují pouze podíl tzv. „pasivní“ autogamie. Sáčky byly na úborech ponechány až do zralosti nažek, aby se zabránilo jejich šíření z úboru.
2. Současně s nažkami z izolovaných úborů byly sebrány nažky z kontrolních úborů (v případě jednoúborných druhů z jiného jedince). V blízkosti rostliny byly vždy

další rostliny stejného druhu, aby bylo umožněno opylení kontrolních úborů.

3. Porovnání zástoupení plných nažek mezi soubory izolovaných a volným sprášením vzniklých úborů.

U polyploidních zástupců byla testována apomixie s možností odhalení zbytkové sexuality. Pro každý druh byly ideálně testovány vždy dvě rostliny ze tří populací (tj. celkem 6 rostlin), přičemž na každé rostlině byly vybrány tři emaskulované a tři kontrolní úbory. Pakliže šlo o druh s menším počtem úborů, byly kontrolní úbory na jiné rostlině z téže populace.

1. Náhodně vybrané zatím nerozkvetlé úbory byly kastrovány (úbor byl kolmo ca v dolní 1/3 délky seříznut žiletkou). Úbory byly zakryty monofilovými sáčky, aby se zabránilo šíření zralých nažek z úboru. Metodou kastrace úborů byly získány pouze nažky vzniklé apomikticky.
2. Současně s nažkami z kastrovaných úborů byly sebrány nažky z kontrolních úborů (v případě jednoúborných druhů z jiného jedince). V blízkosti rostliny byly vždy další rostliny stejného druhu, aby bylo umožněno opylení kontrolních úborů.
3. Bylo porovnání zastoupení plných nažek mezi soubory emaskulovaných a kontrolních úborů, v rámci jednoho druhu.

6.2.1 Statistika

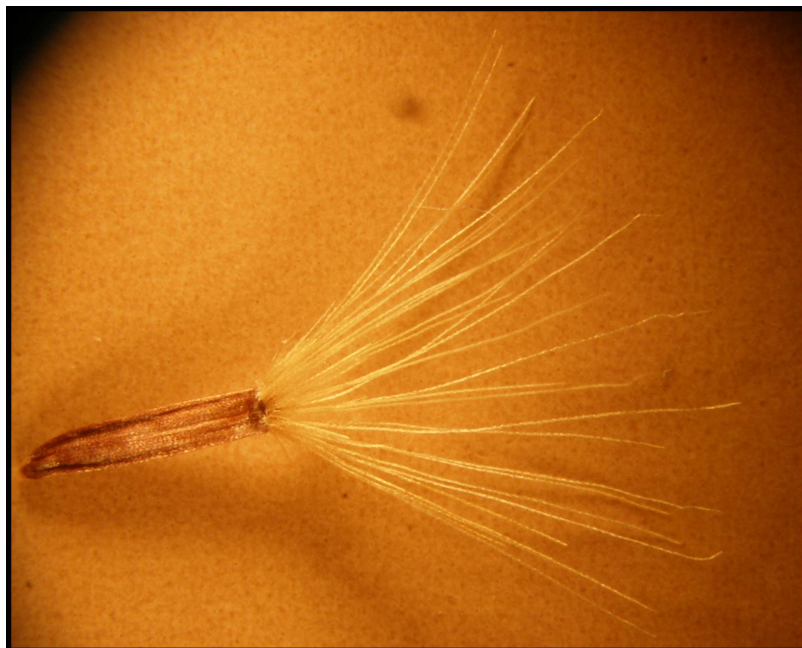
Při testu apomixie jsou soubory porovnávány jak Studentovým t-testem tak neparametrickým Mann-Whitney U testem. I přesto, že data nemají vždy normální rozdělení, zdá se být t-test pro tuto analýzu dosti robustní. Veškeré statistické analýzy byly zpracovány statistickým balíkem "Statistika for Windows 6.0" (StatSoft 1984–2002)".

6.2.2 Posuzování nažek

Zastoupení fertálních nažek se hodnotilo u každého sebraného úboru. Fertální nažky většiny rostlin jsou tmavé, nafouklé (obsahují endosperm) a při lehkém tlaku preparační jehlou se nedají promáčknout (Obr. 6.1.). Naopak sterilní nažky mají barvu světlou a již při lehkém tlaku preparační jehlou dojde k jejich promáčknutí (neobsahují endosperm, Obr. 6.2). Jak tomu obvykle bývá, je zde i skupina nažek neurčitého postavení. Ty mají světlejší barvu a ke správnému určení jejich fertility musí být preparovány. Při preparaci mohou nastat tyto situace:

6 Reprodukční způsoby

1. Endosperm je nevyvinutý - nažku hodnotíme jako sterilní.
2. Endosperm je nedovyvinutý - nažku hodnotíme jako fertlní.
3. Endosperm je vyžraný - nažku hodnotíme jako fertlní.



Obrázek 6.1: Plná nažka druhu *H. glaucum* All.

6.3 Výsledky

Apomixie (respektive přítomnost zbytkové sexuality) byla testována u 18 polyploidních ($2n = 27,36$) druhů s celkovým množstvím 425 úborů. U většiny druhů oba testy shodně neprokázaly odlišnosti mezi testovanými skupinami kastovaných a kontrolních úborů, nezávisle na ploidní úrovni. Výjimkou byl pouze druh *H. glaucum*, oba testy na $\alpha = 0.05$ prokázaly rozdíl (Tab. 6.1). Vzhledem k většímu množství dat v testovaných souborech *H. glaucum* se tento výsledek zdá být prokazatelný. Celkem u 7 diploidních druhů (cytotypů) podrodu *Hieracium* bylo izolačními pokusy testováno zastoupení autogamie. U téměř všech druhů byly všechny nažky izolovaných úborů prázdné, naopak v kontrolních úborech (s možností opylení) byla většina nažek plných. U druhů *H. gouanii*, *H. porrifolium* a *H. umbellatum* vzniklo po izolaci několik (méně než 0.3%) plných nažek (Tab. 6.2).

Pouze jediný druh podrodu *Chionoracium* se podařilo analyzovat a částečně objasnit jeho reprodukční možnosti. Tento druh *Hieracium guatemalense* produkoval po izolaci

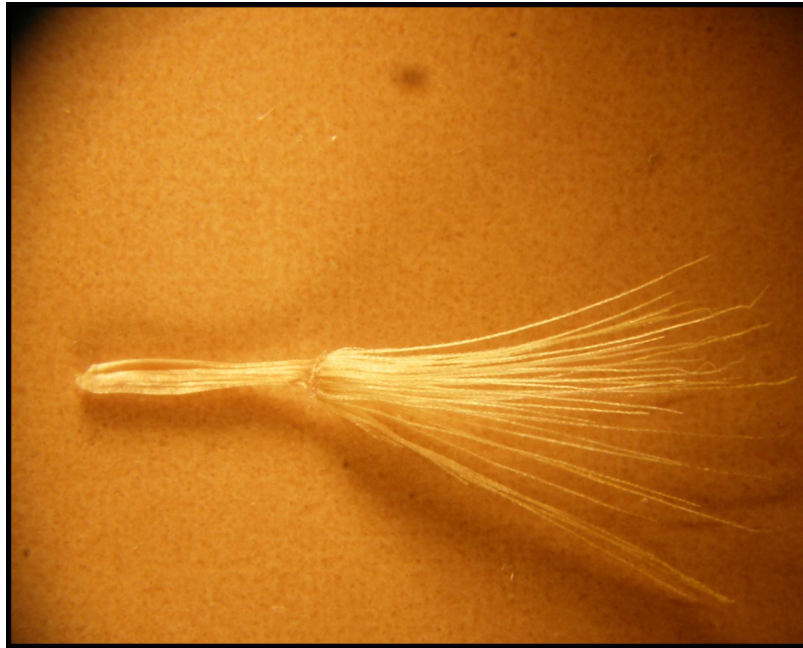
6 Reprodukční způsoby

Tabulka 6.1: Výsledky testů porovnávající zastoupení plných nažek mezi emaskulovanými a kontrolními úbory polyploidních druhů. A) - Apomixie.

Druh	t- test	u-test	Způsob reprodukce
<i>H. amplexicaule</i> L.	t = -0.42, df = 29, p = 0.68	u = 189.5 _{18,22} , p > 0.05	A
<i>H. bifidum</i> Kit.	t = -1.53, df = 29, p = 0.14	u = 80 _{18,13} , p > 0.05	A
<i>H. bupleuroides</i> C. C. Gmel.	t = 1.06, df = 26, p = 0.30	u = 81 _{15,13} , p > 0.05	A
<i>H. caesium</i> (Fr.) Fr.	t = 0.66, df = 16, p = 0.51	u = 32 _{12,6} , p > 0.05	A
<i>H. cerinthoides</i> L.	t = 0.07, df = 33, p = 0.95	u = 143.5 _{16,19} , p > 0.05	A
<i>H. glaucum</i> All.	t = 2.05, df = 37, p = 0.047	u = 110.5_{21,18}, p < 0.05	A
<i>H. humile</i> Jacq.	t = 0.27, df = 20, p = 0.79	u = 49 _{12,10} , p > 0.05	A
<i>H. laevigatum</i> Willd.	t = 1.31, df = 22, p = 0.20	u = 52 _{12,12} , p > 0.05	A
<i>H. lachenalii</i> Suter	t = -0.18, df = 32, p = 0.86	u = 100 _{16,18} , p > 0.05	A
<i>H. murorum</i> L.	t = -1.29, df = 25, p = 0.21	u = 60 _{17,10} , p > 0.05	A
<i>H. olympicum</i> Boiss.	t = -0.03, df = 7, p = 0.97	u = 6 _{7,2} , p > 0.05	A
<i>H. pannosum</i> Boiss.	t = -0.67, df = 6, p = 0.53	u = 100 _{16,18} , p > 0.05	A
<i>H. prenanthoides</i> Vill.	t = 1.62, df = 17, p = 0.12	u = 36.5 _{13,6} , p > 0.05	A
<i>H. racemosum</i> Waldst. et Kit. ex Willd.	t = -1.96, df = 23, p = 0.06	u = 42 _{12,13} , p > 0.05	A
<i>H. sabaudum</i> L.	t = 1.21, df = 47, p = 0.23	u = 207 _{23,26} , p > 0.05	A
<i>H. schmidtii</i> Tausch	t = -1.15, df = 15, p = 0.269	u = 35 _{9,8} , p > 0.05	A
<i>H. viosum</i> Pall.	t = -0.39, df = 7, p = 0.706	u = 7 _{3,6} , p > 0.05	A

Tabulka 6.2: Tabulka zastoupení plných nažek v souborech izolovaných a kontrolních úborů diploidních druhů. AL) - Allogamie

Druh (počet populací)	Množství sebraných izolovaných úborů (ks)	Množství plných nažek izolovaných úborů (ks, %)	Množství sebraných kontrolních úborů (ks)	Zastoupení plných nažek kontrolních úborů (%)	Převažující způsob reprodukce
<i>H. cordifolium</i> Lapeyr. (2)	19	0	12	55,05	AL
<i>H. gouanii</i> Arv.- Touv (1)	23	1 (0,07%)	8	65,48	AL
<i>H. kittanae</i> Vladimirov (1)	7	0	-	-	-
<i>H. porrifolium</i> L. (4)	16	1 (0,1%)	18	71,57	AL
<i>H. sparsum</i> Friv. (1)	7	0	8	12,02	AL
<i>H. tomentosum</i> L. (1)	8	0	13	24,55	AL
<i>H. umbellatum</i> L. (1)	32	2 (0,1%)	13	31,91	AL



Obrázek 6.2: Prázdná nažka druhu *H. glaucum* All.

velké množství nažek. Při porovnání množství plných nažek po izolaci a nažek vzniklých volným sprášením, však nebyl prokázán rozdíl ($t = -1.44$, d.f. = 17, $p = 0.17$). Rostliny bylo velmi obtížné pěstovat. Proto nebyla přítomnost apomixie experimentálně vyloučena.

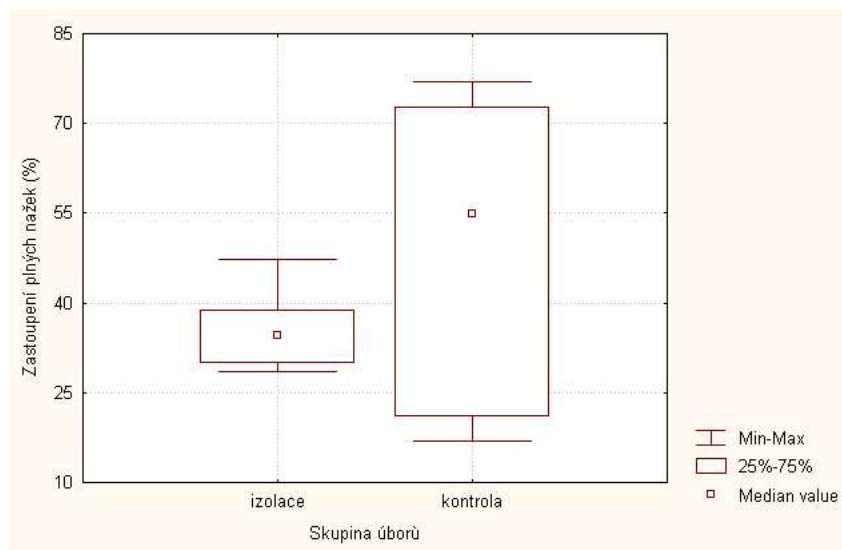
6.4 Diskuze

Při srovnání procentuálního zastoupení plných a prázdných nažek u kastrováných a kontrolních úborů se oba soubory dat významně lišily pouze u *H. glaucum*. Tato rozdílnost však nedokumentuje zbytkovou sexualitu. Jak ukázaly průměry porovnávaných souborů, k větší produkci plných nažek došlo ve skupině kastrováných úborů. Možných vysvětlení není mnoho. Jednoduchá, a zároveň reálná možnost je, že energie původně směřovaná do tvorby kastrací odstraněných generativních orgánů, našla uplatnění při tvorbě nažek. To, že se u žádného ze studovaných apomiktických druhů neprokázala zbytková sexualita, není nijak překvapivý výsledek, vzhledem k dosavadním studiím tohoto typu (*Antennaria*) nepohlavního rozmnožování (Nogler 1984). Nogler popisuje úplnou eliminaci meiotického dělení za vzniku neredukované samičí gamety a autonomní vznik endospermu (který vylučuje přítomnost dvojitého opylení). Navzdory těmto faktům je dokumentován, prozatím jediný, případ zbytkové sexuality u několika

druhů podrodu *Hieracium* (Bergman 1941). Redukční dělení a vznik pylových zrn také podléhá řadě degenerativních změn zapříčiňujících sterilitu pylu (Rosenberg 1927, Gentcheff 1937, Gentcheff & Gustafsson 1940, Aparicio 1994). Pyl ve většině případů vůbec nevzniká. Ojedinělost zbytkové sexuality také podporuje fakt, že dosud nebyla dokumentována účast polyploidních cytotypů na hybridizaci. Výsledky experimentálních pokusů mohou být zkresleny mnoha faktory či metodickými chybami. Samotná špatně provedená kastrace může poškodit generativní orgány a snížit počet plných nažek v úboru. Velkým a špatně ovlivnitelným úskalím je sběr kontrolních úborů. Často malý počet současně kvetoucích rostlin snižuje pravděpodobnost přeletu opylovače právě mezi těmito rostlinami. Problematiku opylování ovlivňují i klimatické podmínky, kdy při chladném počasí klesá aktivita opylovačů na minimum. Tyto faktory mohou výrazně ovlivnit odhalení, již tak skoro mýtického jevu, zbytkové sexuality.

Autogamie je v podrodu *Hieracium* i v rodu *Pilosella* velmi vzácným jevem. Veškeré dokumentované případy se spíše dají považovat za poruchu autoinkompatibility než za typickou autogamii, jak ji známe u mnoha jiných druhů. Jedná se o tzv. „mentor effects“, v případě podrodu *Hieracium* zatím prokázaný zatím jen u několika druhů, v případě rodu *Pilosella* pak např. u *P. lactucella* a *P. officinarum* (Krahulcová & Krahulec 1999). Zjištěn byl ale i u rodů *Helianthus* (Desrochers & Rieseberg 1998), *Taraxacum* (Menken et al. 1989, Tas & Van Dijk 1999) a druhu *Paspalum notatum* (Burton & Hanna 1992). Vysvětlení několika (3) plných nažek u izolovaných úborů *H. recoderi*, *H. porrifolium* a *H. umbellatum* není jasné, spíše než o výsledek samosprášení ale může jít o náhodné zanešení cizího pylu přes netěsnosti v izolačním sáčku. Považovat však vznik těchto plných nažek za důkaz autogamie by bylo více než odvážné.

Jediný testovaný druh podrodu *Chionoracium* po izolaci úborů prokazatelně produkoval plné nažky ve stejné míře jako při volném kvetení. Toto „neuplatnění“ allogamie při pohledu na Obr. 6.3 není tak zřejmé. Odlehlé hodnoty poukazují na to, že některé úbory ve skupině kontrolních úborů opravdu produkovaly více nažek. Ostatní hodnoty, shodné svým množstvím plných nažek s izolovanými květy, mohou být důsledkem nepřítomnosti jiných kvetoucích jedinců. Tento nepřímý náznak autogamie teoreticky vylučuje účast apomixie. Ta by neměla být ovlivněna izolačními pokusy a tak produkovat stejné množství fertálních nažek v obou skupinách úborů. Podobné výsledky bez vyloučení apomixie publikoval Beaman (1967–1968) u druhu *H. mexicanum* a Solle (1988) u druhu *H. abscisum*. Solle (1988) současně neprokázal autogamii u druhu *H. mexicanum*.



Obrázek 6.3: Graf procentuelního zastoupení plyných nažek v izolovaných a kontrolních úbořech druhu *Hieracium* sp .

7 Velikost genomu

7.1 Úvod

Velikost genomu se stala v poslední době často používaným taxonomickým nástrojem. Širší rozvoj studií zaměřených na velikost genomu úzce souvisí s rozvojem metody průtokové cytometrie, která se začala v botanických oborech používat počátkem 80. let 20. století (Galbraith et al. 1983, Sharma et al. 1983, Laurie & Bennett 1985). Velký rozmach této metody ale započal až o deset let později (Doležel et al. 1994, Bennett & Leitch 1995, Bennett & Leitch 2005). První údaje o velikosti jaderného genomu a jeho variabilitě u vyšších rostlin však pochází již z poloviny 20. století (Swift 1950). Příčiny a důvody variability jsou vysvětlovány mnoha různými mechanismy. Nejdříve se předpokládalo, že variabilita je generována pouze jednosměrně „one way ticket to genome obesity“, kde důvodem růstu je mechanismus polyploidizace a přítomností retroelementů v genomu (Flavell et al. 1977, Barakat et al. 1997, Bennetzen & Kellogg 1997). V současnosti již víme, že k růstu či poklesu přispívá i mnoho jiných mechanismů. Výsledné změny jsou pak hlavně výsledkem rychlosti a poměru insercí/delecí (Petrov 2002), selekce transpozonů (Morgan 2001) a nestejnoměrných rekombinací (Wendel et al. 2002, Bennetzen et al. 2005).

Interpretace často poměrně značných rozdílů ve velikosti genomu je značně obtížná a bez znalosti evoluční historie příslušné skupiny často až nemožná. Studií zabývajících se evolucí velikosti genomu ve fylogenetickém kontextu (rekonstrukce na základě molekulárních dat) je ale zatím velmi málo (např. Albach & Greilhuber 2004, Price et al. 2005, Weiss-Schneeweiss et al. 2006). Značná pozornost byla v poslední době věnována velikosti jaderného genomu v polyploidních komplexech. Dá se říci, že polyploidní zástupci mají nižší hodnoty velikosti genomu ($1Cx$) než diploidní. Tento trend zvaný „downsizing“ se stal v současnosti obecným modelem (Kellogg & Bennetzen 2004, Leitch & Bennett 2004). Příčinou tohoto jevu jsou pravděpodobně výše zmíněné mechanismy. Je však dokumentován i opačný jev, např. u tetraploidního cytotypu druhu *Orobanche transcaucasica* (Weiss-Schneeweiss et al. 2006). Autoři vysvětlují tento antagonismus teprve nedávným vznikem zmíněného polyploidního cytotypu. Krátký čas nedovolil výraznější redukci genomu, hypotéza je podpořena molekulárními

daty. Při snaze vysvětlit rozdíly ve velikostech genomu jsou často testovány i korelace s různými ekologickými a geografickými faktory. Jsou dokumentovány korelace genomu s nadmořskou výškou u rodu *Dactylis* (Reeves et al. 1998), *Berberis* (Bottini et al. 2000), *Veronica* (Albach & Greilhuber 2004) a *Centaurea* (Bancheva & Greilhuber 2006) či s kontinentalitou u rodu *Cheirolopus* (Garnatje et al. 2007) a *Cirsium* (Bureš et al. 2004). Jasnější se zdá být korelace s reprodukčními mechanismy či životní strategií (např. Albach & Greilhuber 2004). Autoři zde dokumentují prokazatelně nižší velikost genomu jednoletých rostlin rodu *Veronica* vzhledem k víceletým druhům.

Vzhledem k tomu že vnitrodruhová variabilita ve velikosti genomu je zřejmě obecně velmi malá (např. Murray 2005), může být také důležitým znakem pro vymezení druhů. Rozdíly ve velikosti genomu u blízce příbuzných druhů pak umožňují rozpoznávat křížence, kteří mají hodnotu velikosti genomu mezi hodnotami rodičovských druhů (Buitendijk et al. 1997, Thalmann et al. 2000, Zonneveld 2001, Šiško et al. 2003, Bureš et al. 2004, Baack et al. 2005, Závěský et al. 2005, Suda et al. 2007).

Rod *Hieracium* s.l. se nemůže pyšnit mnoha záznamy mapujícími variabilitu velikosti genomu (Bräutigam & Bräutigam 1996, Suda et al. 2007). Rozsáhlejší práce (Suda et al. 2007) postihla variabilitu 24 hlavních druhů včetně pěti hybridních. Obě tyto práce se však věnují pouze rodu *Pilosella*. Zde studované skupiny jsou tímto fenoménem netknuty.

7.2 Metodika

Velikost genomu (2C) byla měřena metodou průtokové cytometrie přístrojem Partec Cyflow vybaveným zeleným laserem (532 nm) jako excitátorem PI. Veškerá data se podařilo získat díky Laboratoři průtokové cytometrie Botanického ústavu AV ČR a laboratoři Katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. Jako interní standard pro diploidní cytotypy byla použita *Zea mays* L. „CE-777“, 2C = 5.48 pg (Lysák & Doležel 1998) a pro polyploidní cytotypy *Pisum sativum* L. „Ctirad“, 2C = 8.85 pg (Doležel et al. 1994, Suda et al. 2007). Před samotnou analýzou byl každý vzorek podroben přípravě léty osvědčenou dvoufázovou metodou (Otto 1990): Pokud možno mladé intaktní listy (cca 1 cm²) byly nasekány společně s odpovídajícím množstvím standardu a 1 ml vychlazeného roztoku Otto I v malé plastové Petriho misce. Ostří žiletky použité ke fragmentaci a vyplavení jader do roztoku bylo použito vždy jen jednou. Získaný roztok byl přefiltrován přes 42 μm nylonový filtr a centrifugován 5 minut při 150 g. Odstraněním supernatantu a znovupromícháním peletu se 100 μl roztoku Otto I byl roztok připraven k analýze. Po 10 minutové inkubační době byl vzorek obarven 1 ml Otto II ve směsi s RNase IIA, PI (obojí v koncentraci 50

$\mu\text{l ml}^{-1}$ a β -mercaptoetanolem v koncentraci $2 \mu\text{l ml}^{-1}$. Po asi 5 minutové inkubační době byl vzorek podroben analýze průtokovou cytometrií. Konec měření byl ohraničen 5000 analyzovanými jádry. Hodnoty velikosti genomu (2C) byly odečteny z grafického výstupu, jako lineární závislost mezi pikem standardu o známé velikosti genomu a pikem vzorku. V konečné fázi byly hodnoty přepočteny ve vztahu k jednomu zvolenému standardu *Zea mays* L. „CE – 777“, $2C = 5.48 \text{ pg}$ (Lysák & Doležel, 1998). Kvůli odstranění případných artefaktů byl každý vzorek změřen třikrát ve třech různých dnech. Pokud chyba měření přesahovala 2%, analýzy se opakovaly až do snížení hodnoty pod tuto hranici.

7.2.1 Statistika

Veškeré statistické analýzy byly zpracovány statistickým balíkem „Statistika for Windows 6.0 (StatSoft 1984–2002)“. Při statistickém zpracování vnitrodruhové variability jsou populace druhů *H. bupleuroides*, *H. prenanthoides*, *H. pannosum*, *H. pilosum* a *H. villosum* posuzovány jako samostatné entity. Tuto separaci podpořili hlavně výsledky molekulární fylogeneze, kde ETS sekvence odhalily hybridní původ či introgresi u některých populací druhů *H. bupleuroides*, *H. prenanthoides*, *H. pilosum*, *H. villosum*; Fehrer et al. in prep.). Stejně posuzován byl i druh *H. pannosum*, jehož dvě populace vykazovaly velkou vnitrodruhovou variabilitu velikosti genomu a zároveň byly zastoupeny odlišnými cytotypy. Tyto samostatné skupiny jsou v rámci druhu označeny jako I. a II. (Tab. 7.2).

1. Rozdíly ve velikosti genomu (1Cx) v celkovém souboru druhů byly testovány analýzou variance (ANOVA), rozdíly mezi jednotlivými druhy pak následným (post hoc) Scheffého testem.
2. V dalším kroku bylo testováno jak velikost genomu koresponduje s hlavními liniemi (pracovně nazvanými „východní“ (E) a „západní“ (W)) rozlišenými na základě molekulární fylogeneze a zda na základě sekvencí ETS hybridní/hybridogenní druhy mezi „západní“ a „východní“ skupinou (Fehrer et al. in prep.) mají také velikost genomu odpovídající tomuto intermediárnímu postavení. Populace, klasifikované jako hybridogenní/hybridní mezi již zmíněnými hlavními liniemi, byly rozděleny do třech skupin dle jejich příbuznosti (podobnosti ETS sekvencí) k jedné ze skupin: 1) hybridogenní/hybridní druhy mající stejné zastoupení sekvencí od obou linií (X), 2) hybridogenní/hybridní druhy mající typem ETS bazí větší afinitu k „západní“ linii (X(W)), 3) hybridogenní/hybridní druhy mající typem ETS bazí větší afinitu k „východní“ linii (X(W)). Rozdíly mezi

takto definovanými skupinami byly porovnávány analýzou variance (ANOVA) a následně Scheffého testem. Testy byly prováděny ve dvou variantách, lišících se zařazením/vyloučením druhu *H. transylvanicum*, který má svými vlastnostmi dosti výsostné postavení. Jeho ETS typ sekvence ho řadí do "západní" skupiny. Velikostí genomu a svým areálem výskytu však spíše prokazatelně spadá do východní linie.

3. Pro vyjádření korelací mezi velikostí genomu (1Cx), chromozómovým číslem ($2n = 18, 27, 36$) a reprodukční strategií (sexuál, apomikt) bylo použito Spearmanova neparametrického korelačního koeficientu (r). Při hledání korelací mezi velikostí genomu a zeměpisnou délkou, zeměpisnou šířkou či nadmořskou výškou bylo opět použito Spearmanova korelačního koeficientu. Korelace se zeměpisnou délkou byly testovány se všemi studovanými druhy (bez znalosti molekulární fylogeneze) a následně pak pouze s druhy (populacemi) podrobenými molekulárním analýzám. Oba tyto přístupy byly také modifikovány absencí druhů se širokým areálem (*H. bifidum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. murorum* a *H. umbellatum*).

7.3 Výsledky

Aby mohly být výstupy z cytometrické analýzy použity k další interpretaci je nutná co nejnižší chyba měření vyjádřená hodnotou CV. Tato hodnota se u píků vzorků pohybovala v rozmezí 0.83 až 5.76% s průměrem 2.23%, hodnota píků standardu se pohybovala v rozmezí 0.97 až 5.0% s průměrem 2.14% (Tab. 7.1). Hodnoty píku standardu *Pisum sativum* byly ve většině případů nižší než hodnoty standardu *Zea mays*.

7.3.1 Genom podrodů *Hieracium* a *Chionoracium*

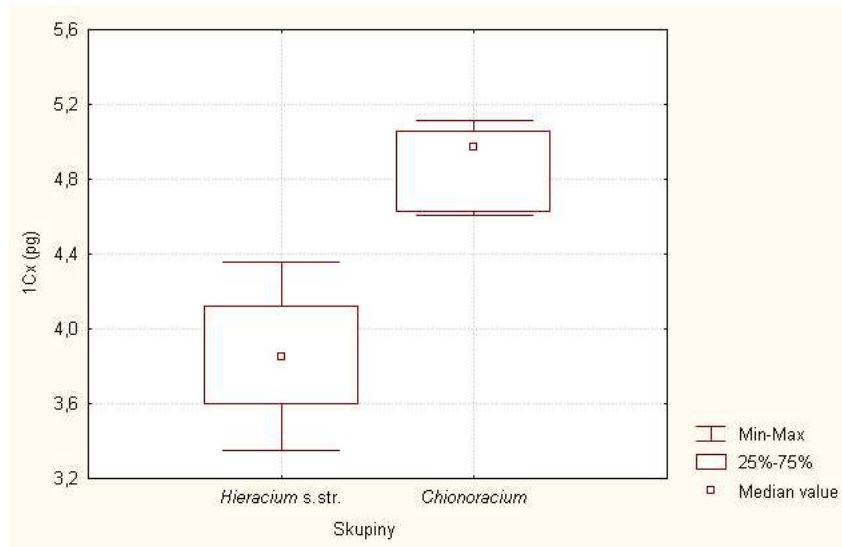
V této práci byly zjištěny velikosti genomu u 238 rostlin z 92 populací, patřících 43 druhům rodu *Hieracium* s. str. (populace hodnocené jako samostatné celky zde nejsou brány v úvahu) a 3 druhům rodu *Chionoracium* (Tab. 7.2). Mezi podrody je statisticky významný rozdíl ($t = -15.1405$, d.f. = 236, $p < 0.001$), průměrnou hodnotu 1Cx je 3.86 pg pro podrod *Hieracium* a 4.89 pg pro podrod *Chionoracium* (Obr. 7.1). V rámci podrodu *Hieracium* se holoploidní velikost genomu (2C) pohybuje v rozmezí od 7.03 pg u diploidního druhu *H. stelligerum* po 16.67 pg u tetraploidního cytotypu *H. pannosum* (Obr. 7.2). 1Cx hodnoty se pohybují v rozmezí od 3.51 pg u *H. stelligerum* (Obr. 7.3) po 4.34 pg u *H. virosum* (Obr. 7.4). 1Cx hodnota je nejčastěji zastoupena v rozmezí 3.5–3.6 pg (Obr. 7.5). V rámci diploidních druhů (cytotypů u

7 Velikost genomu

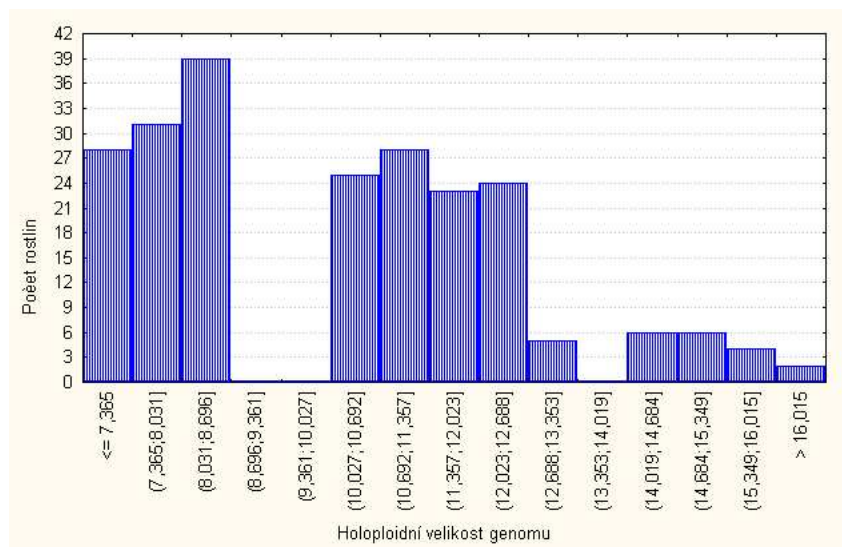
Tabulka 7.1: Průměrné hodnoty CV pro jednotlivé druhy

Druh	CV vzorku (průměr)	krajní hodnoty	CV standardu (průměr)	krajní hodnoty
Hieracium s. str.				
<i>H. alpinum</i> L.	2,15	1,44-2,87	1,91	1,01-2,75
<i>H. amplexicaule</i> L.	2,19	1,62-2,93	2,23	1,26-4,99
<i>H. bifidum</i> Kit.	2,20	1,73-2,92	2,46	1,93-3,64
<i>H. bracteolatum</i> Sibth. & Sm.	2,53	1,99-3	2,91	1,79-4,91
<i>H. bupleuroides</i> C. C. Gmel.	2,10	1,53-2,95	2,05	1,42-2,83
<i>H. caesium</i> (Fr.) Fr.	2,74	2,12-2,75	2,30	2,11-3,49
<i>H. cerinthoides</i> L.	2,17	1,71-2,48	2,23	1,66-2,72
<i>H. cordifolium</i> Lapeyr.	2,03	1,44-2,86	2,02	1,08-2,86
<i>H. eriophorum</i> St.-Amans	2,25	1,11-3	2,47	1,58-3,24
<i>H. glaucum</i> All.	1,90	1,36-2,73	1,84	1,25-2,57
<i>H. gouani</i> Arv.-Touv	1,77	1,23-2,39	1,79	1,1-2,65
<i>H. gymnocephalum</i> Griseb. ex Pant.	3,98	1,83-7,81	3,64	2,73-4,72
<i>H. gymnocerinthe</i> Arv.-Touv. & G. Gaut.	2,22	1,57-2,62	2,07	1,7-2,63
<i>H. heterogynum</i> (Froel.) Guterm.	1,94	1,06-2,56	2,48	2,12-2,98
<i>H. humile</i> Jacq.	2,35	1,68-2,86	2,02	1,49-2,85
<i>H. kittanae</i> Vladimirov	1,97	1,25-2,86	1,78	1,27-2,4
<i>H. laevigatum</i> Willd.	2,28	1,46-2,98	2,00	1,18-2,65
<i>H. lachenalii</i> Suter	2,47	1,91-2,95	2,06	1,46-2,63
<i>H. lawsonii</i> Vill.	2,37	2,04-2,78	1,99	1,47-2,35
<i>H. murorum</i> L.	2,01	1,3-2,68	1,92	1,21-2,63
<i>H. naegelianum</i> Pančić	2,38	1,57-2,96	2,04	1,48-2,96
<i>H. olympicum</i> Boiss.	2,94	1,48-4,01	1,84	1,67-2,11
<i>H. pannosum</i> Boiss.	2,31	1,36-3,64	2,13	1,01-2,95
<i>H. petrovae</i> Vladimirov & Szelag	2,38	2,15-2,68	1,93	1,58-2,47
<i>H. pictum</i>	2,51	1,71-2,98	2,36	1,82-3
<i>H. piliferum</i> Hoppe	2,29	1,71-2,95	2,18	1,62-3,21
<i>H. pilosum</i> Schleich. ex Froel.	2,23	1,56-2,84	2,16	1,74-2,82
<i>H. plumulosum</i> A. Kern.	2,33	1,66-2,69	2,26	1,47-2,74
<i>H. porrifolium</i> L.	1,47	0,83-2,8	1,56	0,97-2,65
<i>H. prenanthoides</i> Vill.	2,35	1,44-2,99	2,32	1,58-2,95
<i>H. racemosum</i> Waldst. et Kit. ex Willd.	2,24	1,55-2,81	2,26	1,61-2,95
<i>H. ramondii</i> Griseb.	2,32	1,84-2,76	1,95	1,55-2,25
<i>H. recoderi</i> De Retz	2,07	1,42-2,62	1,89	1,1-2,58
<i>H. sabaudum</i> L.	2,01	1,45-2,5	1,99	1,57-2,38
<i>H. schmidtii</i> Tausch	1,93	1,38-2,82	2,02	1,27-2,97
<i>H. sparsum</i> Friv.	2,27	1,75-2,92	2,94	2,63-3,59
<i>H. stelligerum</i> Froel.	2,26	1,6-4,5	2,12	1,05-4,55
<i>H. tomentosum</i> L.	1,99	1,38-2,7	1,92	1-3,35
<i>H. transsilvanicum</i> Heuff.	1,68	1,14-2,16	1,48	1,09-1,82
<i>H. umbellatum</i> L.	2,33	1,58-2,99	2,43	1,65-3,59
<i>H. villosum</i> Jacq.	2,20	1,56-2,89	2,78	1,81-5
<i>H. viosum</i> Pall.	2,65	1,67-5,76	2,48	1,65-4
Chionoracium				
<i>H. guatemalense</i> Standley & Steyermark	2,15	1,78-3,6	1,80	1,09-2,99
<i>H. scabrum</i> Froel. ex DC.	1,54	1,18-2,38	1,70	1,19-2,66
<i>Hieracium</i> sp.	1,71	1,3-2,31	1,61	1,16-2,6
Celkový průměr	2,23		2,14	

7 Velikost genomu

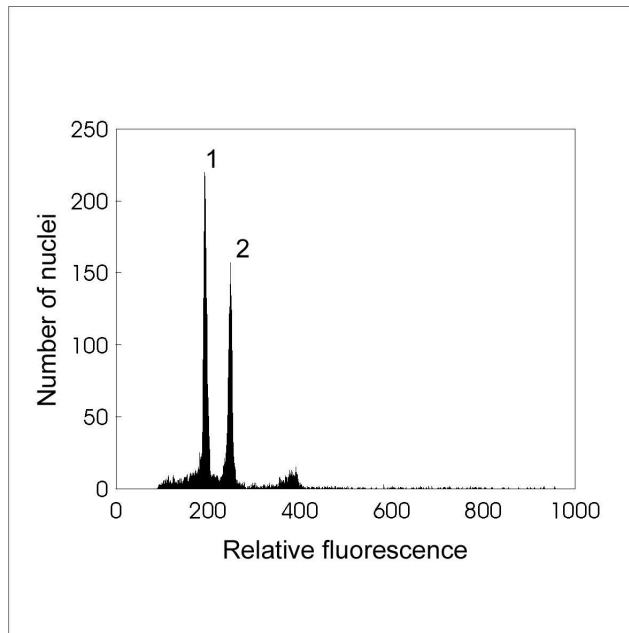


Obrázek 7.1: Diagram ukazující rozdíly monoploidní velikosti genomu mezi podrody *Hieracium* a *Chionoracium*.

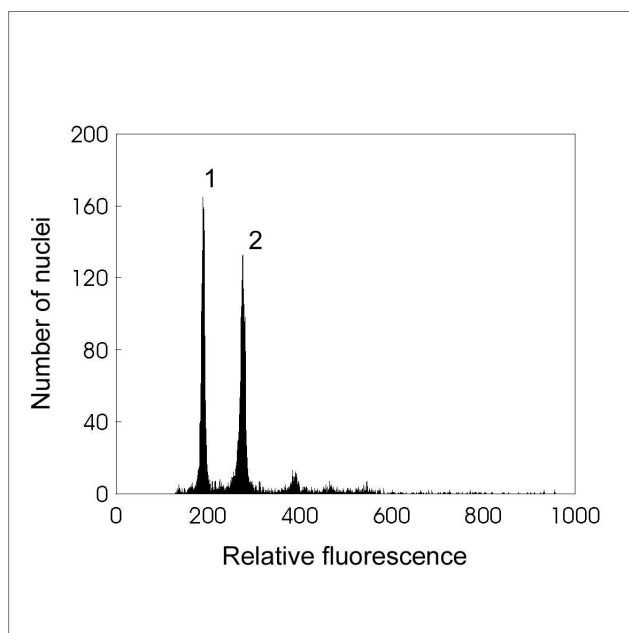


Obrázek 7.2: Histogram 2C hodnot velikosti genomu podrodu *Hieracium*.

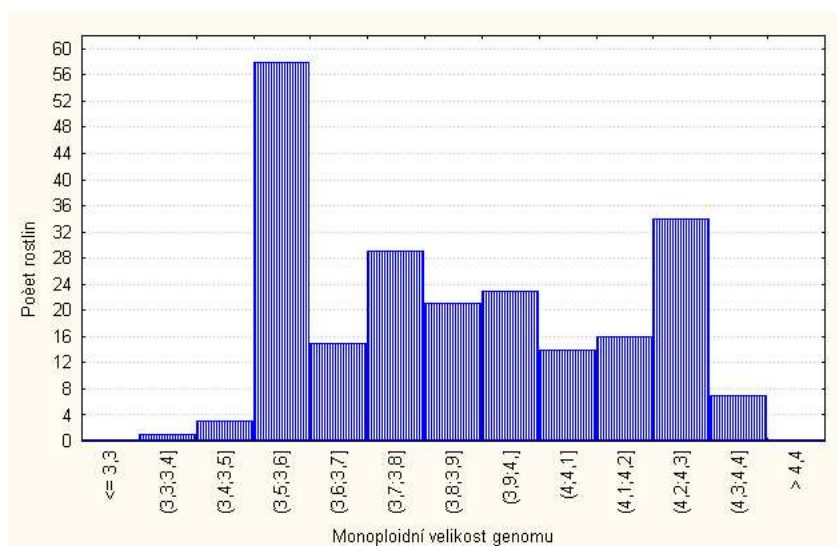
7 Velikost genomu



Obrázek 7.3: Výstup z cytometrické analýzy zaznamenávající nejmenší nalezený genom (Cx) diploidního druhu *H. stelligerum*. Poměr píku standardu (1) vůči píku vzorku (2) je 1.294. CV vzorku - 1.97 a CV standardu (*Zea mays*) - 1.66.



Obrázek 7.4: Výstup z cytometrické analýzy zaznamenávající největší nalezený genom (Cx) triploidního druhu *H. virosum*. Poměr píku standardu (1) vůči píku vzorku (2) je 1.432. CV vzorku - 1.96 a CV standardu (*Pisum sativum*) - 1.83



Obrázek 7.5: Histogram Cx hodnot velikosti genomu podrodu *Hieracium*.

multiploidních druhů) se hodnoty 1Cx pohybují v rozmezí od 3.51 pg u *H. stelligerum* po 4.29 pg u *H. plumulosum* (s průměrem 3.92 pg), u triploidních zástupců (cytotypů) v rozmezí od 3.53 pg u *H. bifidum* do 4.35 pg u *H. viosum* (s průměrem 3.81 pg), u tetraploidních druhů (cytotypy) v rozmezí od 3.56 pg u *H. humile* do 4.17 pg u *H. pannosum* II. (s průměrem 3.79 pg). Analýza variance prokázala signifikantní rozdíly 1Cx mezi všemi druhy ($F_{47,173} = 179.72$, $p < 0.001$). Scheffého test oddělil na hladině ($\alpha = 0.01$) 15 skupin (Tab. 7.2). Prokazatelné byly i rozdíly v rámci ploidních úrovní 2x ($F_{16, 82} = 576.75$, $p < 0.001$), 3x ($F_{30, 74} = 69.58$, $p < 0.001$) a 4x ($F_{7, 10} = 149.03$, $p < 0.001$). U podrodu *Chionoracium* (dokumentovány jen diploidní druhy) se hodnoty 2C pohybují v rozmezí od 9.24 pg u *Hieracium guatemalense* sp. po 10.14 pg u *Hieracium* sp. (průměr 9.78 pg).

7.3.2 Vnitrodruhová variabilita

Vnitrodruhová variabilita byla hodnocena u 41 druhů podrodu *Hieracium* (všechny druhy s výjimkou *H. petrovae* a *H. plumulosum* kde byla měřena vždy pouze jedna rostlina) a 3 druhů podrodu *Chionoracium*. Průměrné 2C hodnoty se střední chybou, krajními hodnotami, 1Cx hodnotami pro druhy i populace a vnitropopulační variabilitou jsou shrnuty v tabulce 7.2 Variabilita 1Cx se pohybovala v rozmezí od 0.24 % u *H. gymnocephalum* a *H. heterogynum* po 7.2 % u *H. pannosum*. Zvolenou hranici vnitrodruhové variability 3.5 % (Suda et al. 2007) překročilo 7 druhů (*H. amplexicaule*, *H. bupleuroides*, *H. laevigatum*, *H. pannosum*, *H. pictum*, *H. piliferum* a *H. prenanthoides*). Pokud však posuzujeme jednotlivé populace *H. bupleuroides*,

Tabulka 7.2: Tabulka velikostí genomu.

Druh	Lokality (číslo udává počet pěstovaných rostlin; S jsou označeny rostliny vypěstované z výsevu)	2n (+ - počty publikované v Chrtěk et al. 2007)	Členění dle molekulární fylogeneze (Fehrer et al. in prep); n.a. - neanalyzované populace	2C DNA hodnota (průměr s.e.) (pg)	Rozsah 2C hodnoty (pg DNA)	1Cx (pg)	1Cx průměr druhu s.e.	Rozsah 1Cx v rámci druhu	Variabilita (%)	Scheffého skupiny
Hieracium s.str.										
<i>H. alpinum</i> L.	Ukr: Chomohora (4) Fra: Hautes Alpes (1) druhový průměr	18 27	E n.a.	7,90 ± 0,01 11,87	7,88 - 7,92 -	3,95 3,96				
<i>H. amplexicaule</i> L.	Aut: Hohe Tauern (2) Aut: Hohe Tauern (1) Esp: prov. Gerona (1) Fra: Hautes Alpes (1) Ita: Rhaetian Alps (2) druhový průměr	27+ 27+ 27+ 27 36+	X(W) n.a. n.a. n.a. n.a.	10,70 ± 0,01 10,74 10,8 10,62 14,66 ± 0,07	10,7 - 10,71 - - - 14,59 - 14,72	3,57 3,58 3,6 3,54 3,67		3,95 ± 0,01 3,94-3,97	0,76	I-M
<i>H. bifidum</i> Kit.	1213 (1) VZ 36 (2) VZ 37 (2) druhový průměr	27 27* 27*	W n.a. n.a.	10,67 10,52 ± 0,01 10,62 ± 0,01	- 10,52 - 10,53 10,61 - 10,63	3,56 3,51 3,54		3,6 ± 0,02 3,54-3,68	3,95	A-D
<i>H. bracteolatum</i> Sibth. & Sm.	Grc: Pilion (2) (S)	27	X	12,39 ± 0,08	12,31 - 12,47	4,13		3,53 ± 0,01 4,13 ± 0,03	1,42 1,46	A,B K-O
<i>H. bupleuroides</i> C. C. Gmel. I.	Sk: Biele Karpaty (2)	27+	E(H)	11,95 ± 0,05	11,91 - 12,01	3,99				H-M
<i>H. bupleuroides</i> C.C. Gmel. II.	Sk: Chočské vrchy (2) Sk: Roháče (2)	27+ 27	n.a. E	12,00 ± 0,02 11,73	11,96 - 12,00 -	3,99 3,91				
	Aut: Dachstein massif (1) Sk: Slovenský raj (1) Aut: Allgauer Alpen (1) druhový průměr	27+ 27+ 27	n.a. n.a. n.a.	11,61 ± 0,05 12,03 11,63	11,56 - 11,66 - -	3,87 4,01 3,88				
<i>H. caesium</i> (Fr.) Fr.	Swe: prov. Gotland (3) Swe: prov. Gästrikland (3) druhový průměr	36+ 36+	X(W) n.a.	14,66 ± 0,12 14,75 ± 0,05	14,52 - 14,89 14,66 - 14,83	3,67 3,69		3,95 ± 0,06 3,85-4,01	4,2	E-L
<i>H. cerinthoides</i> L.	Esp: Pirineus Mts. (2)	27+	W(H)	10,68 ± 0,03	10,66 - 10,71	3,56		3,68 ± 0,01 3,56 ± 0,01	2,2 0,56	B-G A-D
<i>H. coratifolium</i> Lapeyr.	Esp: Pirineus Mts. (6)	18+	W(H)	7,18 ± 0,02	7,11 - 7,22	3,59		3,59 ± 0,01 3,56-3,61	1,4	A-D

7 Velikost genomu

<i>H. eriophorum</i> St.-Amans	Fra: dépt. Landes, Labenne (6) (S)	18+	E	8,51 ± 0,03	8,45 - 8,61	4,25					
	Fra: dépt. Landes, Vieux-Boucau-les-Bains (6) (S)	18+	n.a.	8,55 ± 0,03	8,44 - 8,61	4,27					
	druhový průměr						4,27 ± 0,01	4,22-4,31	2,13		N-O
<i>H. glaucum</i> All.	Slo: Julijske Alpe (2)	27+	n.a.	11,31 ± 0,03	11,29 - 11,34	3,77					
	Slo: Julijske Alpe (2)	27+	n.a.	11,42 ± 0,00	11,42 - 11,42	3,81					
	Slo: Julijske Alpe (2)	27	X	11,39 ± 0,05	11,34 - 11,44	3,8					
	druhový průměr						3,79 ± 0,01	3,76-3,81	1,33		D-I
<i>H. gouani</i> Arv.-Touv	Esp: prov. Gerona (8)	18+	X(W)	7,10 ± 0,01	7,07 - 7,12	3,55			3,55 ± 0	3,54-3,56	A-D
<i>H. gymnocephalum</i> Griseb. ex Pant.	Albania: Jezerce (2)	18	X	8,44 ± 0,01	8,43 - 8,45	4,22			4,23 ± 0,01	4,22-4,23	K-O
<i>H. gymnocerinthae</i> Arv.-Touv. & G. Gaut.	Esp: Serra del Cadí (2)	27+	W(H)	10,6 ± 0,02	10,58 - 10,61	3,53			3,54 ± 0,01	3,53-3,54	A-C
<i>H. heterogynum</i> (Froel.) Guterm.	Montenegro: Lovćen (2) (S)	27	X	12,52 ± 0,02	12,52 - 12,55	4,17			4,18 ± 0,01	4,17-4,18	K-O
<i>H. humile</i> Jacq.	Aut: Dachstein massif (2)	36+	W	14,25 ± 0,01	14,24 - 14,26	3,56					
	Fra: Corbières (2)	27	W	10,64 ± 0,01	10,61 - 10,66	3,55					
	druhový průměr								3,55 ± 0,01	3,54-3,57	A-D
<i>H. kittanae</i> Vladimirov	Blg: Rodopi (3)	18+	E	8,41 ± 0,04	8,38 - 8,46	4,21			4,21 ± 0,01	4,19-4,23	L-O
<i>H. lachenalii</i> Suter	Cze: Křivoklátsko (2)	27+	n.a.	11,25 ± 0,01	11,27 - 11,29	3,76					
	Cze: distr. Znojmo (2)	27+	W	11,22 ± 0,03	11,19 - 11,24	3,74					
	Cze: distr. Praha-východ (2)	27	n.a.	11,24 ± 0,06	11,20 - 11,32	3,75					
	druhový průměr								3,75 ± 0,01	3,73-3,76	C-H
<i>H. laevigatum</i> Willd.	Cze: Brdy (2)	27+	X	12,05 ± 0,02	12,01 - 12,08	4,02					
	Cze: Hradec Králové (2)	27+	n.a.	12,00 ± 0,08	11,94 - 12,10	4					
	D: distr. Kamenz (2) (S)	27	n.a.	12,41 ± 0,01	12,40 - 12,42	4,14					
	druhový průměr								4,05 ± 0,02	3,97-4,14	K-M
<i>H. lawsonii</i> Vill.	Fra: Corbières (2)	27	W	10,76 ± 0,02	10,74 - 10,78	3,59					
	Fra: Briançon (1)	36	n.a.	14,71	-	3,68					
	druhový průměr								3,62 ± 0,03	3,58-3,68	A-F
<i>H. murorum</i> L.	Cze: Plzeň (2)	27+	W	10,62 ± 0,06	10,55 - 10,68	3,54					
	Cze: Doupovské hory (2)	27+	n.a.	10,67 ± 0,05	10,63 - 10,72	3,56					
	Cze: Český kras (2)	27+	n.a.	10,74 ± 0,02	10,72 - 10,76	3,58					
	druhový průměr								3,56 ± 0,01	3,52-3,59	A-D
<i>H. naegeleanum</i> Pančić	Montenegro: Durmitor Mts (2)	27+	E	10,89 ± 0,08	10,81 - 10,97	3,63			3,63 ± 0,03	3,6-3,66	A-G

7 Velikost genomu

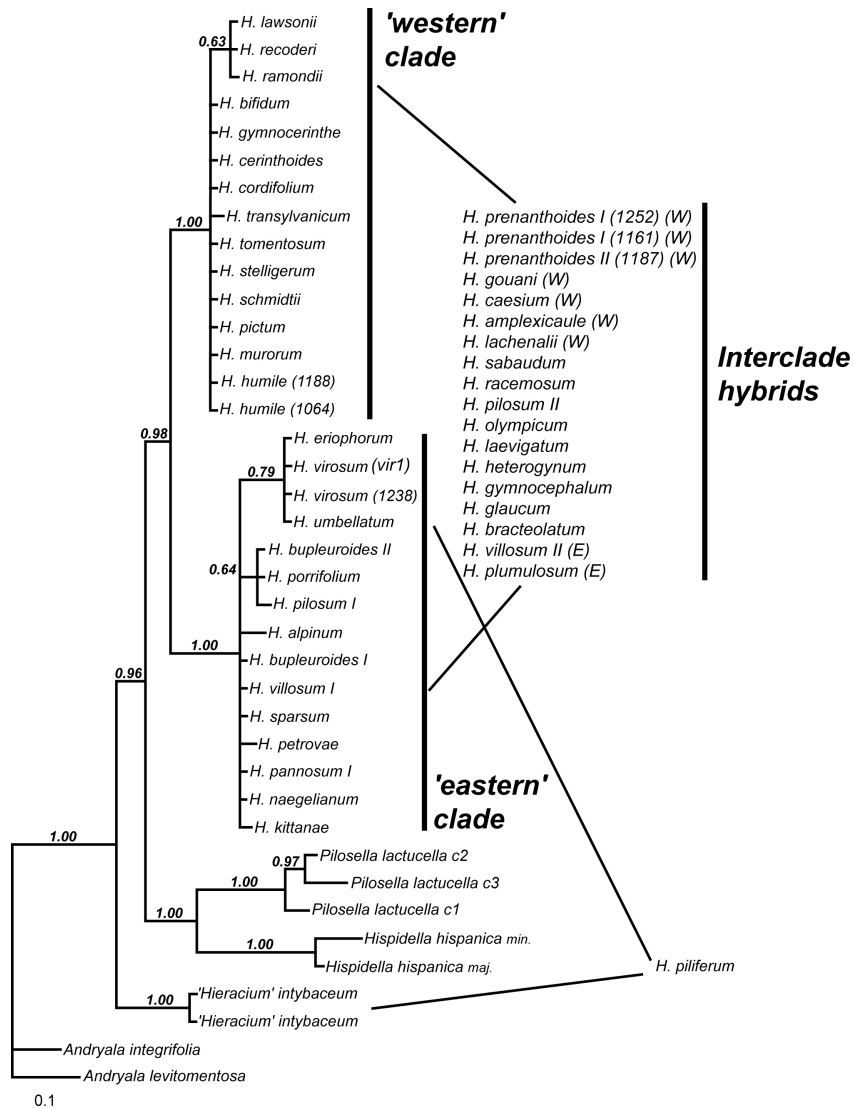
<i>H. olympicum</i> Boiss.	Blg: Kaloferska Planina (2)	27+	X	12,27 ± 0,05	12,22 - 12,33	4,09	4,05 ± 0,01	4,04-4,06	0,5	J-N
<i>H. pannosum</i> Boiss. I	Blg: Trojanska Planina (2)	27+	E	11,71 ± 0,05	11,66 - 11,77	3,9				G-L
<i>H. pannosum</i> Boiss. II	Grc: Peloponnesos (2) (S)	36	n.a.	16,67 ± 0,01	16,66 - 16,67	4,17				K-O
	druhový průměr						4,04 ± 0,08	3,89-4,17	7,2	
<i>H. petrovae</i> Vladimirov & Szalay	Blg: Rodopi (1)	18+	E	7,9	-	3,95				F-M
<i>H. pictum</i>	Fra: Briancon I (2)	27	n.a.	10,78 ± 0,27	10,5 - 11,05	3,59				
	Fra: Briancon II (2)	27	W	10,75 ± 0,13	10,62 - 10,88	3,58				
	druhový průměr						3,59 ± 0,04	3,5-3,68	5,14	A-D
<i>H. piliferum</i> Hoppe	Aut: Gurktaler Alpen (2)	36	n.a.	15,57 ± 0,04	15,54 - 15,60	3,89				
	Aut: Reisseck-Gruppe (1)	27	n.a.	11,58	-	3,86				
	Patrik 1845 (1)	27	n.a.	11,58	-	3,86				
	Fra: Hautes Alpes (2)	27	n.a.	11,95 ± 0,07	11,89 - 12,02	3,99				
	druhový průměr						3,91 ± 0,02	3,86-4,01	3,89	H-L
<i>H. pilosum</i> Schleich. ex Froel. I.	Slo: Julijske Alpe (1)	27	E	11,57		3,86				C-K
<i>H. pilosum</i> Schleich. ex Froel. II.	Slo: Julijske Alpe (1)	27	X	11,8		3,93				E-L
	druhový průměr						3,9 ± 0,04	3,86-3,93	1,81	
<i>H. plumulosum</i> A. Kern.	Montenegro: Mirtvica canyon (1)	18+	X(E)	8,59	-	4,29				N-O
<i>H. porrifolium</i> L.	Aut: Karawanken (6)	18+	E	7,76 ± 0,01	7,7 - 7,79	3,88				
	Aut: Karawanken (1)	18	n.a.	7,7	-	3,85				
	Slo: Julijske Alpe (6)	18+	n.a.	7,82 ± 0,02	7,74 - 7,85	3,91				
	druhový průměr						3,89 ± 0,01	3,85-3,93	2,08	I-L
<i>H. prenanthoides</i> Vill. I.	Pol: Karonosze (2)	27	W	10,82 ± 0,03	10,78 - 10,85	3,61				
	Fra: Hautes Alpes, La Grave (1)	18	W	7,11	-	3,55				
	Fra: Hautes Alpes, Briancon (2)	18	n.d.	7,29 ± 0,01	7,24 - 7,24	3,64				
	druhový průměr									A-E
<i>H. prenanthoides</i> Vill. II.	Andorra: Canillo (2)	27+	X(W)	11,41 ± 0,02	11,40 - 11,43	3,8				C-J
	druhový průměr						3,67 ± 0,04	3,56-3,81	7,02	
<i>H. racemosum</i> Waldst. et Kit. ex Willd.	Cze: distr. Znojmo (2)	27	X	12,41 ± 0,02	12,39 - 12,44	4,14				
	Cze: distr. Ústí and Orlici (2)	27	n.a.	12,26 ± 0,01	12,26 - 12,26	4,09				
	Sk: Gemer (1) (S)	27	n.a.	12,24		4,08				
	druhový průměr						4,11 ± 0,06	4,08-4,15	1,72	K-N

<i>H. ramondii</i> Griseb.	Andorra: Encamp (2)	27+	W	10,63 ± 0,07	10,56 - 10,7	3,54	3,54 ± 0,03	3,51-3,57	1,71	A-D
<i>H. recoderi</i> De Retz	Esp: prov. Barcelona (8)	18+	W	7,09 ± 0,01	7,00 - 7,09	3,53				A,B
<i>H. sebaudum</i> L.	Cze: Praha (2)	27	n.a.	12,51 ± 0,05	12,47 - 12,56	4,17				
	D: Oberlausitz (2)	27	X	12,65 ± 0,03	12,62 - 12,68	4,22				
	Cze: České středohoří (2)	27	n.a.	12,36 ± 0,01	12,35 - 12,37	4,12				
	druhový průměr						4,17 ± 0,02	4,12-4,23	2,67	K-O
<i>H. sparsum</i> Friv.	Blg: Pirin (3)	18	E	8,05 ± 0,05	7,98 - 8,15	4,03	4,03 ± 0,03	3,99-4,08	2,56	J-M
<i>H. schmidtii</i> Tausch	Cze: České středohoří (2)	27+	n.a.	10,64 ± 0,05	10,59 - 10,69	3,55				
	Cze: České středohoří (2)	27+	W	10,58 ± 0,00	10,61 - 10,61	3,54				
	Cze: Křivoklátsko (2)	27	n.a.	10,60 ± 0,01	10,60 - 10,61	3,53				
	druhový průměr						3,54 ± 0,01	3,52-3,56	1,14	A-C
<i>H. stelligerum</i> Froel.	Fra: dépt. Ardèche (3)	18+	W	7,03 ± 0,06	6,94 - 7,14	3,51	3,46 ± 0,06	3,35-3,57	2,85	A
<i>H. tomentosum</i> L.	Fra: dépt. Alpes Maritimes (8)	18+	W	7,48 ± 0,02	7,41 - 7,58	3,74				
	Fra: Briançon (1)	27	n.a.	11,27	-	3,76				
	Fra: Hautes Alpes (2)	27	n.a.	11,25 ± 0,08	11,17 - 11,33	3,78				
	druhový průměr						3,75 ± 0,01	3,71-3,79	2,16	C-H
<i>H. transsilvanicum</i> Heuff.	Ukr: Marmaros'ki Al'py (8)	18+	W	8,56 ± 0,01	8,52 - 8,59	4,28	4,28 ± 0	4,26-4,3	0,94	N-O
<i>H. umbellatum</i> L.	Pol: Baltic coast, Jantar (1)	18	E	8,34	-	4,17				
	Cze: Praha (8)	18+	n.a.	8,54 ± 0,01	8,48 - 8,59	4,27				
	D: distr. Nordfriesland (2) (S)	18	n.a.	8,48 ± 0,03	8,45 - 8,52	4,24				
	druhový průměr						4,26 ± 0,01	4,17-4,3	3,12	M-O
<i>H. villosum</i> Jacq. I.	Sk: Strážovské vrchy (2)	36	E	15,71 ± 0,04	15,66 - 15,75	3,93				H-L
<i>H. villosum</i> Jacq. II.	Fra: Hautes Alpes (1)	27	X(E)	11,6	-	3,87				C-L
	druhový průměr						3,91 ± 0,02	3,87-3,94	1,81	
<i>H. virosum</i> Pall.	Russia: Rostov-na-Donu (2) (S)	27	E	13,06 ± 0,03	13,02 - 13,09	4,35				
	Russia: Altajskij kraj (3) (S)	27	E	13,00 ± 0,01	12,98 - 13,03	4,34				
	druhový průměr						4,34 ± 0	4,33-4,36	0,69	O
Chionoracium										
<i>H. guatemalense</i> Standley & Steyermark	Guatemala (6)	-		9,23 ± 0,01	9,21 - 9,26	4,62	4,62 ± 0	4,61 - 4,63	1,39	
<i>H. scabrum</i> Froel. ex DC.	USA: Michigan (3)	18		9,93 ± 0,01	9,91 - 9,94	4,96	4,96 ± 0	4,96 - 4,97	0,31	
<i>Hieracium</i> sp.	Guatemala (8)	-		10,14 ± 0,02	10,09 - 10,23	5,07	5,07 ± 0	5,05 - 5,12	0,57	

H. prenanthoides a *H. pannosum* samostatně (vzhledem k výsledkům molekulárních analýz, které spíše ukazují na možnost introgrese a morfologickým odlišnostem) jejich vnitrodruhová variabilita nepřekračuje 3.5% (viz metodika). Vnitrodruhová variabilita podrodu *Chionoracium* dosahuje u druhů *Hieracium* sp. 1.4 %, *H. guatemalense* 0.57 % a *H. scabrum* 0.31 %.

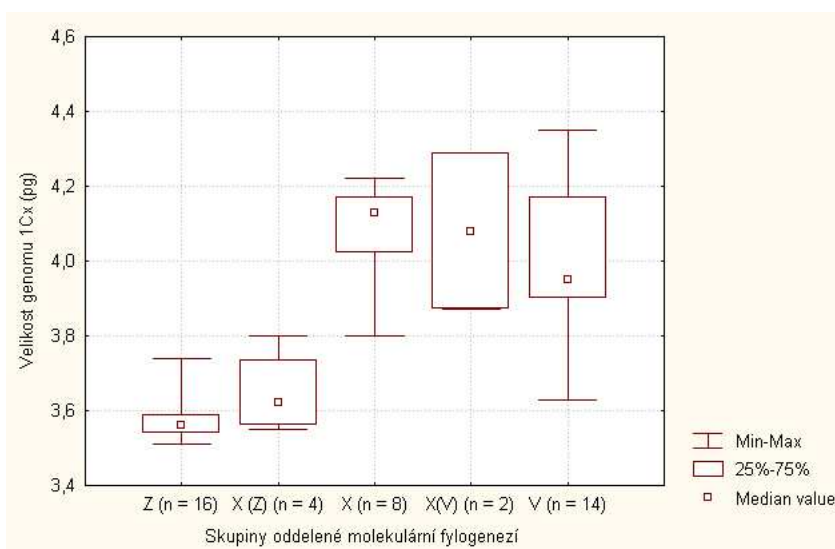
7.3.3 Korelace velikosti genomu s molekulární fylogenezí

Při hledání případných souvislostí s výsledky molekulární fylogeneze (ETS sekvencí) (Fehrer et al. in prep.) byly použity jen populace zahrnuté v molekulárních analýzách (tab. 7.2). Fylogenetická rekonstrukce rozdělila jestřábníky podrodu *Hieracium* do dvou hlavních linií částečně odpovídajících jejich geografickému rozšíření (Obr. 7.6).



Obrázek 7.6: Fylogenetický strom na bázi ETS bazí (Fehrer et al.)

15 populací třinácti druhů (dvě populace *H. humile* a *H. prenanthoides* L.) spadajících do „západní“ linie má holoploidní velikosti genomu (2C) v rozsahu od 7.03 pg u diploidního *H. stelligerum* do 14.25 u tetraploidního zástupce *H. humile*. Monoploidní velikost se pohybuje v rozmezí 3.51 pg u *H. stelligerum* až 4.28 pg u *H. transylvanicum*. Po vyloučení druhu *H. transylvanicum* (viz kapitola 7.2.1) se jako hraniční ukázala populace *H. tomentosum* s 3.57 pg. Do druhé linie, pracovní nazvané „východní“, spadá 14 populací třinácti druhů (dvě populace *H. villosum*), s rozsahem 2C hodnot od 7.78 pg u diploidního *H. porrifolium* po 15.71 pg u tetraploidního druhu *H. villosum*. Monoploidní velikost genomu se u této skupiny pohybuje v rozmezí od 3.63 pg u *H. naegelianum* do 4.35 pg u *H. virosum*. Rozdíly mezi těmito skupinami se ukázaly jako statisticky signifikantní jak při zařazení *H. transylvanicum* do „západní“ skupiny ($t = -5.34$, d.f. = 27, $p < 0.001$), tak po jeho vyřazení z této skupiny ($t = -7.55$, d.f. = 26, $p < 0.001$). Po přidání třetí skupiny druhů (populací) do analýzy, vyhodnocené ETS daty jako hybridogenní mezi dvěma hlavními liniemi (východní a západní), se rozdíly ukázaly stále jako signifikantní $\alpha = 0.01$ ($F = 17.96$, d.f. = 44, $p < 0.001$) i po vyřazení *H. transylvanicum* ($F = 27.82$, d.f. = 43, $p < 0.001$). Scheffého test však oddělil na hladině $\alpha = 0.05$ pouze 2 skupiny, první samostatná „západní“ linie a druhá obsahující „východní“ linii i hybridogenní skupinu. Po rozčlenění hybridogenních populací do tří skupin (X (W), X, X (E)), analýza variance prokázala signifikantní rozdíly jak s *H. transylvanicum* ($F = 16.75$, d.f. = 42, $p < 0.001$), tak i bez něj ($F = 29.13$, d.f. = 41, $p < 0.001$) (Obr. 7.7). Scheffého test oddělil, při zařazení *H. transylvanicum* do analýzy,



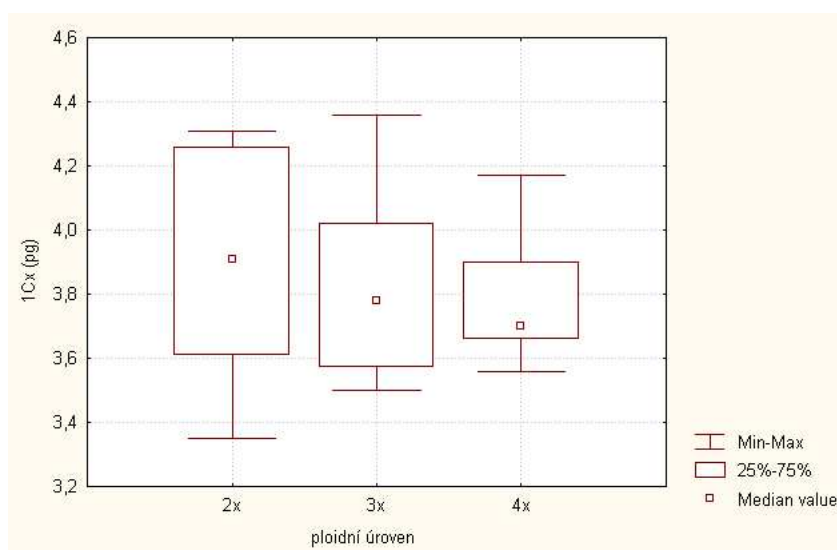
Obrázek 7.7: Porovnání velikostí genomu (1Cx) skupin podrodu *Hieracium* oddělených molekulární fylogenezí (bez *H. transylvanicum*).

ale jen dvě skupiny ($\alpha = 0.05$). Do první spadá západní (W) a jí blíže příbuzná

X(W), do druhé patří východní, jí příbuzná X(E) a hybridogenní (X).

7.3.4 Korelace velikosti genomu s ploidií, reprodukční strategií a ekologickými faktory

Monoploidní velikost genomu (1Cx) diploidních rostlin je statisticky významně odlišná od velikosti genomu u triploidů ($t = 2.6$, d.f. = 201, $p = 0.009$) a tetraploidů ($t = 2.05$, d.f. = 114, $p = 0.042$). Rozdíly mezi polyploidními cytotypy ale již průkazné nejsou. Přesto je na grafu (Obr. 7.8) patrný trend poklesu velikosti genomu s rostoucí ploidií

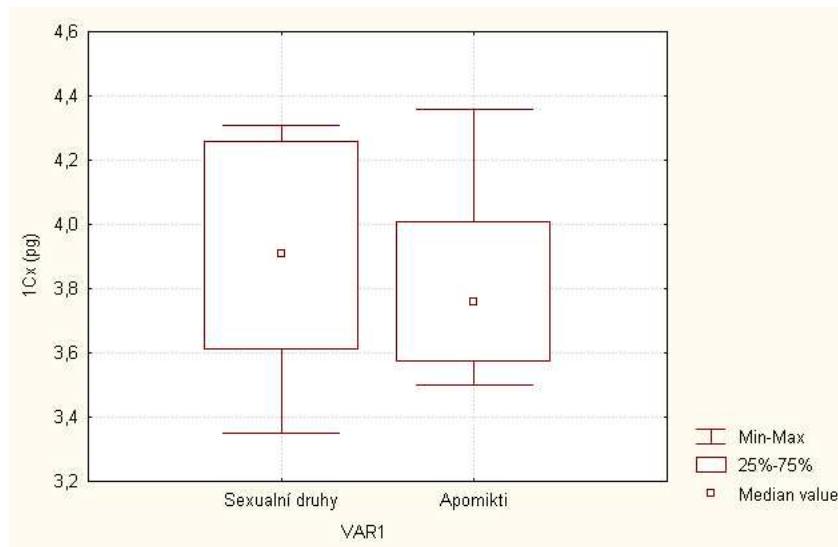


Obrázek 7.8: Graf ukazující na trend poklesu velikosti genomu s rostoucí ploidií úrovní.

(genome downsizing). Použití neparametrického korelačního testu tato data podpořilo ($r = -0.185$, $p = 0.06$). 1Cx, vztažená k převažujícímu reprodukčnímu mechanismu (2x jsou považovány za sexuálně se množící druhy a 2x a 4x za apomikty), ukázala signifikantní rozdíly ($t = 2.97$, d.f. = 219, $p = 0.003$) (Obr. 7.9). Průměry 3.92 pg (2x) a 3.82 pg (3x, 4x) úzce korespondují s průměry ploidiálních úrovní.

Při pokusech nalézt korelace velikosti genomu s faktory prostředí se jako nejdůvěhodnější ukázala zeměpisná délka ($r = 0.45$, $p < 0.0001$). Po vyloučení druhů s velkým areálem (kde významně záleží na místě sběru vzorků) (*H. bifidum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. murorum*, *H. sabaudum* a *H. umbellatum*), se síla korelace ještě zvýšila ($r = 0.52$, $p < 0.0001$). Pokud byly brány v úvahu výsledky fylogenetické rekonstrukce na základě sekvencí ETS a do korelační analýzy zařazené jen populace použité v molekulárních analýzách, síla závislosti znovu vzrostla ($r = 0.619$, $p < 0.001$). Po odebrání již zmíněných druhů s velkým areálem a druhu *H. transylvanicum*

7 Velikost genomu



Obrázek 7.9: Porovnání velikosti genomu (Cx) mezi skupinami s odlišnými reprodukčními možnostmi.

došlo k opětovnému navýšení korelačního koeficientu ($r = 0.647$, $p < 0.001$). Tato posloupnost poukazuje na to, že spíše než geografická poloha jednotlivých druhů, primárně koresponduje velikost genomu s vývojovými vztahy ($r = 0.647$, $p < 0.001$). Žádná korelace 1Cx se zeměpisnou šířkou ($r = 0.12$, $p = 0.28$) či nadmořskou výškou ($r = -0.27$, $p = 0,012$) nebyla prokázána.

7.4 Diskuze

7.4.1 Variabilita velikosti genomu rodu *Hieracium*

V této práci jsou poprvé zveřejněny hodnoty velikosti genomu u podrodů *Hieracium* a *Chionoracium*. Velikostí genomu u blízce příbuzného rodu *Pilosella* se již dříve zabývali Bräutigam & Bräutigam (1996), soubornou studii pak publikovali Suda et al. (2007). Všechny tři skupiny se při $x = 9$ svými 2C hodnotami překrývají. Vyšší cytotypová variabilita podrodu *Pilosella* ($2x - 8x$), v kontrastu s menším zastoupením vyšších cytotypových úrovní podrodu *Hieracium* ($2x - 5x$) a *Chionoracium* ($2x$), tento jev rozumně vysvětluje. Monoploidní velikosti ($1Cx$) se již nepřekrývají, a tak tyto podrody výrazně oddělují. Cx hodnoty skupiny *Pilosella* (Suda et al. 2007) jsou nižší, intermediární pozici má skupina *Hieracium* a nejvyšších hodnot (již ne tolik odlišných) dosahuje skupina *Chionoracium* (Tab. 7.3). Výrazně menší rozdíly Cx mezi *Hieracium*–*Chionoracium* než mezi *Pilosella* – *Hieracium* poukazují na bližší vývojové vztahy podrodů *Hieracium* a *Chionoracium*. Tato informace koresponduje

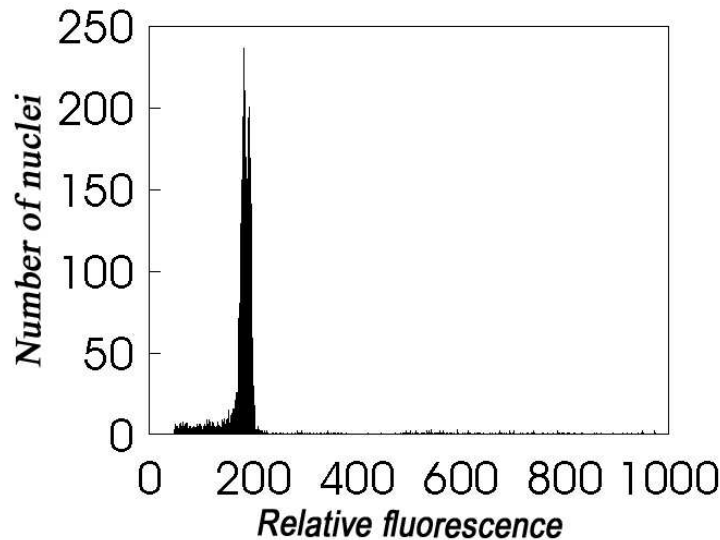
Tabulka 7.3: Porovnání genomů „podrodů“ rodu *Hieracium* .

Skupina	Cytotypová variabilita	Krajní hodnoty 2C (pg)	Krajní hodnoty Cx (pg)
<i>Pilosella</i> (Suda et al. 2007)	2x - 8x	3.53 - 15.30	1.72 - 2.16
<i>Hieracium</i> s. str.	2x - 5x	7.03 - 16.67	3.51 - 4.34
<i>Chionoracium</i>	2x	9.21 - 10.21	4.61 - 5.11

s výsledky práce rekonstruující evoluční vztahy těchto podrodů pomocí ITS a ETS sekvencí jaderné DNA. *Hieracium* a *Chionoracium* tu tvoří samostatnou vývojovou linii vůči linii zahrnující rod *Pilosella* (Fehrer et al. 2007). Odlišná velikost genomu úzce souvisí s velikostí chromozómů. Chromozómy *Hieracium* s. str. jsou výrazně větší než chromozómy zástupců rodu *Pilosella*, což může být způsobené nahromaděním repetitivních sekvencí. K poznání genomu rodu *Hieracium* však chybí stále mnoho.

7.4.2 Vnitrodruhová variabilita

U většiny druhů zahrnutých v této práci, je vnitrodruhová variabilita velmi nízká (např. *H. alpinum* 0.76%, *H. cerinthoides* 0.56%). Stanovenou hranici 3.5% překročilo jen sedm „hlavních“ druhů - *H. piliferum* (3.89%), *H. amplexicaule* (3.95%), *H. bupleuroides* (4.2%), *H. laevigatum* (4.28%), *H. pictum* (5.14%), *H. prenanthoides* (7.02%) a *H. pannosum* (7.2%). Zde je na místě zamyslet se, čím mohou být tyto oscilace zapříčiněny. Špatná interpretace může být způsobena taxonomickou koncepcí konceptem druhu, jeho ohraničením, morfologickou složitostí či pouze špatnou znalostí morfologické variability. Samotná vysoká hodnota je nám tedy náповědou a je třeba prověřit, zda námi hodnocený druh nezahrnuje taxonomicky odlišné entity (Greilhuber & Speta 1985, Murray 2005). Tak tomu je i v případě podrodu *Hieracium*, data získaná z ETS sekvencí (Fehrer et al. in prep.) ukazují hybridní/hybridogenní původ také u druhu *H. laevigatum*, *H. amplexicaule* a *H. piliferum*, čímž může být vysoká vnitrodruhová variabilita částečně vysvětlena (jednotlivé populace mohly vzniknout nezávisle na sobě). Podobně u druhů *H. prenanthoides*, *H. bupleuroides*, *H. pilosum* a *H. villosum* molekulární fylogeneze odhalila možnost polytopního vzniku. Konkrétně u *H. prenanthoides* molekulární analýza ukázala odlišný původ u každé ze tří populací, přičemž jedinec původem z Andory vykazuje vlastnosti hybridu mezi Z a V linií (viz fylogeneze). Po rozdělení populací do samostatně vystupujících skupin se variabilita u první snížila na 1.96% a u druhé na 0.24 %. Tento druh je také jediný u kterého byla variabilita prokázána při společné analýze odlišných populací *H. amplexicaule* (Obr. 7.10). Konečně samotná přítomnost více cytotypů u *H. amplexicaule* 3x/4x, *H. prenanthoides* 2x/3x a *H. pannosum* 3x/4x poukazuje na jejich možný mnohonásobný



Obrázek 7.10: Výstup z cytometrické analýzy dvou odlišných populací *H. amplexicaule* potvrzující nalezenou vnitrodruhovou variabilitu.

vznik, jako původce vnitrodruhové variability. Příčinou vysoké vnitrodruhové variability *H. pictum* je prokazatelně artefakt. Toto rozhodnutí podporuje i fakt, že variabilita byla nalezena uvnitř populace o dvou rostlinách. Tyto argumenty ve výsledku ukazují, že u rodu *Hieracium* s. str. nebyl odhalen jasný doklad vnitrodruhové variability nehybridogenních druhů. V práci zabývající se rodem *Pilosella* (Suda et al. 2007) taktéž nebyla dokumentovaná vnitrodruhová variabilita „hlavních druhů“ větší než 3.5%. Tuto hranici přesáhly jen tři druhy hybridního/hybridogenního původu, z nichž rostliny jednoho z nich byly výsledkem experimentálního křížení. Je také dokumentováno mnoho případů, kde je variabilita vysvětlena jako odraz metodických chyb měření či přítomností sekundárních metabolitů (Greilhuber 1998). Podobně byla variabilita prokázána mezi izolovanými populacemi druhu *Koeleria macranta* var. *majoriflora* (Pecinka et al. 2006) nebo mezi izolovanými evropskými populacemi *Sesleria albicans*.

Zde však mezipopulační variabilita dosahovala jen 1.6 % (Lysák et al. 2000).

7.4.3 Genom, ploidie a reprodukční mechanizmy

Diploidní druhy/cytotypy multiploidních druhů mají signifikantně menší monoploidní velikost genomu (C_x) než polyploidní druhy/cytotypy multiploidních druhů. Polyploidní druhy mezi sebou ale již nevykazují jasné rozdíly, přesto je zde patrný pokles C_x hodnoty s rostoucí ploidní úrovní. Tento obecný jev zvaný „downsizing“ je známý u mnoha rodů krytosemenných rostlin (Kellogg & Bennetzen 2004, Leitch & Bennett 2004, Weiss-Schneeweiss et al. 2006). Data také ukazují na vyšší stabilitu velikosti genomu „autopolyploidních“ druhů v kontrastu s prokazatelně allopolyploidně mnohonásobně vzniklými druhy. Porovnáním cytotypů v rámci této práce studovaných multiploidních druhů tento jev ale nebyl potvrzen. Výsledky jsou však dosti zpochybnitelné kvůli malému počtu měřených jedinců. Podobný jev je v rámci čeledě Asteraceae také dokumentován u rodu *Centaurea* s.l. (Bancheva & Greilhuber 2006) nebo u čeledě *Orobanchaceae* (Weiss-Schneeweiss et al. 2006).

I když se rozdíly mezi sexuálně se množícími druhy a apomikty ukázaly jako statisticky významné, dá se předpokládat, že tyto výsledky pouze kopírují vztah ploidního stupně a velikosti genomu. První sexuálně se množící skupina koreluje s diploidními druhy. Ty jsou dobře odlišené od polyploidních druhů, stejně jako sexuálně se množící druhy od apomiktů. Přesto zde jistá závislost může být. Např. u rodu *Veronica* byla GLS metodou prokázána korelace velikosti genomu a autogamie (Albach & Greilhuber 2004). Podobné závěry byly učiněny i u rodu *Allium* (Labani & Elkingston 1987) či ve studii mapující reprodukční mechanizmy 175 druhů rostlin (Govindaraju & Cullis 1991).

7.4.4 Velikost genomu ve vztahu k ekogeografickým faktorům

Zda je variabilita velikosti genomu jen odezvou fylogenetických vztahů, „náhodných“ genových posunů nebo nějakým způsobem souvisí s faktory vnějšího prostředí, ukázaly především korelační analýzy s ekogeografickými faktory. Ty však bývají často hodnoceny jako dosti nejasné a zpochybnitelné.

Signifikantně pozitivní korelace se ukázala ve vztahu C_x hodnoty k zeměpisné délce. Tento výsledek byl podpořen vyjmutím druhů s areálem zasahujícím do celé Evropy. Tyto druhy výrazně ovlivňovaly výsledek statistiky lokalitou sběru. Pravděpodobně je tato korelace spíše odrazem vývojových vztahů než geografické polohy jako vnějšího faktoru. Naopak negativní korelace byla nalezena s nejuvýchodnější hranicí rozšíření druhů rodu *Cirsium*, kde nejuvýchodněji položené druhy měly nejmenší genom (Bureš

et al. 2004). Vztah s východní hranicí rozšíření má jistě větší výpovědní hodnotu než korelace se zeměpisnou délkou v místě sběru. Ta je však u rodu *Hieracium* prakticky neaplikovatelná. U většiny druhů tohoto taxonomicky složitého rodu totiž nejsou známé přesné hranice rozšíření. Vnitrodruhová korelace genomu s geografickou polohou byla nalezena i uvnitř několika druhů rodu *Koeleria* z Čech a Slovenska (Pecinka et al. 2006). Žádný vztah se zeměpisnou délkou nebyl prokázán u *Sesleria albicans* (Lysák et al. 2000). Korelace velikosti genomu ve vztahu k zeměpisné šířce se u podrodu *Hieracium* neprokázala. Negativní korelace byla dokumentována u druhu *Festuca arundinacea* (Ceccarelli et al. 1992). Žádný vztah nebyl odhalen u druhu *Dactylis glomerata* (Creber et al. 1994). Nejasný trend těchto korelací poukazuje spíše na individuální závislosti či dokonce artefakty.

V poslední době je často diskutován vztah velikosti genomu a nadmořské výšky. Tato závislost u podrodu *Hieracium* nebyla prokázána, stejně jako u rodů *Cirsium* (Bureš et al. 2004), *Artemisia* a *Tripleurospermum* (Garcia et al. 2004, 2005). Neprůkazná nebo negativní korelace je dokumentována i u druhů *Dactylis glomerata* (Vilhar et al. 2002) či *Vicia faba* (Ceccarelli et al. 1994). V případě podrodu *Hieracium* by byl potenciální korelační vztah výrazně zkrácený samotným výběrem lokalit sběru. Obzvláště silně by působily druhy vyskytující se od nížin až do hor. V našem případě se jedná například o *H. bifidum*, jehož populace jsou sebrány v rozmezí nadmořské výšky 245 – 1350 m. Existují však práce dokumentující pozitivní korelace velikosti genomu s nadmořskou výškou, např. u rodu *Centaurea* s.str. (Bancheva & Greilhuber 2006).

7.4.5 Velikost genomu a fylogeneze

Dvě hlavní skupiny druhů nazvané „západní“ a „východní“, oddělené molekulární fylogenezí, silně korespondují s distribucí velikosti genomu. Obě linie obsahují všechny zde dokumentované cytotypy. Podobné skupiny, s neméně signifikantními rozdíly, jsou snadno konstruovatelné na základě jejich geografické polohy. K tomu přispívají hlavně endemické či geograficky dobře vymezené druhy. Za takové druhy můžeme označit například *H. stelligerum*, druhy sekce *Cerinthoidea*, spadající geograficky do „západní“ skupiny nebo druhy východní skupiny *H. kittaniae*, *H. petrovae* a *H. eriophorum*. Protože fylogenetická rekonstrukce nedokázala přiblížit vztahy mezi ploidními stupni v rámci druhu, byly cytotypy jednoho druhu posuzovány jako celek.

Velkou výjimku z celého souboru dat tvoří druh *H. transylvanicum*. ETS i ITS sekvence tento druh řadí do „západní“ skupiny. Svým rozšířením, vázaným hlavně na rumunská a ukrajinská pohoří (výskyt v západní Evropě není dokumentován), a výrazně větší velikostí genomu spadá do „východní“ skupiny. Toto unikátní postavení

může být vysvětleno dvěma způsoby (Fehrer et al. in prep.). Druh je východního původu, jak tomu nasvědčuje jeho současné rozšíření a velikost genomu, přičemž jeho západní postavení vysvětluje časově velmi vzdálená introgrese s druhem západní linie a následná homogenizace (concerted evolution) sekvencí směrem k „západnímu“ typu. Druhé vysvětlení předpokládá západní původ druhu *H. transylvanicum*. Po zatlačení druhu v době ledové přežil druh jen ve východním glacialním refugiu, k jeho znovušíření tak došlo pouze do východní části Evropy. Velikost genomu by v tomto případě byla vázána spíše na jeho polohu než na evoluční vztahy. Za předpokladu, že velikost genomu spíše koresponduje s evolučními vztahy než s geografickou polohou (viz předchozí kapitola), se první vysvětlení zdá pravděpodobnější. Dalším podobným případem, nepodpořeným již tolik velikostí genomu, je *H. eriophorum*. Tento druh je ETS daty řazen do východní linie, a přitom je lokálním endemitem francouzského atlantického pobřeží. Příčina je pravděpodobně v tom, že *H. eriophorum* je evolučně poměrně mladým derivátem druhu *H. umbellatum* (kterému je podle molekulární fylogeneze velmi blízce příbuzné), vzniklým pravděpodobně adaptací na písčité duny podél mořského pobřeží (poléhavá lodyha apod.).

Některé druhy (*H. amplexicaule*, *H. bracteolatum*, *H. caesium*, *H. glaucum*, *H. gouanii*, *H. gymnocephalum*, *H. heterogynum*, *H. laevigatum*, *H. olympicum*, *H. plumulosum*, *H. prenanthoides*, *H. racemosum* a *H. sabaudum*) či některé populace (*H. pilosum* a *H. villosum*), klasifikované jako druhy „hlavní“ (Zahn 1921-1923), byly molekulární analýzou označeny za druhy hybridogenního původu mezi „východní“ a „západní“ linií (Fehrer et al. in prep.). Nepotvrdil se však předpoklad, že hybridogenní/hybridní druhy budou mít Cx hodnotu v rozmezí průměrů obou hlavních linií, tak jako tomu bylo i u hybridogenních jedinců podrodu *Pilosella* (Suda et al. 2007). Při porovnání těchto pěti skupin měla intermediární hybridogenní skupina blíže k „východní“ linii a byla signifikantně odlišná od „západní“ linie. Zároveň svou průměrnou Cx hodnotou převyšovala, spolu se skupinou příbuznější svými ETS bazemi k východní linii, průměry obou hlavních linií (Obr. 7.7). Tento jev může být vysvětlen vyhynutím rodičů těchto hybridů s genomem převyšujícím své potomky. Možná je i situace nezařazení rodičovských druhů do analýz. Tato představa je možná za předpokladu, že jsou rodičovské druhy klasifikovány jako druhy „vedlejší“. Alternativní vysvětlení tohoto jevu je prosté navýšení genomu hybridních/hybridogenních jedinců prostřednictvím množících se retrotransposonů. Stejný případ je dokumentován u rodu *Helianthus*, kde došlo k navýšení genomu u hybridních druhů skoro o 50% (Baack et al. 2005). Statistické analýzy také ukázaly velkou blízkost hybridogenní/hybridní skupiny s dominancí ETS bazí „západní“ skupiny (*H. amplexicaule*, *H. caesium*, *H. gouanii*, *H. lachenalii* a *H. prenanthoides*) k samotné „západní“ linii. Zároveň byla signifikantně

7 Velikost genomu

odlišná od intermediární skupiny. Úzký vztah poskytuje prostor pro úvahu o zpětném křížení a fixaci apomixie.

8 Závěr

1. Patern rozmístění cytotypů „hlavních“ druhů podrodu *Hieracium* odpovídá modelům postglaciálního šíření. Polyploidní jedinci jsou konkurenčně schopnější a jsou schopny rychleji obsadit volné niky. Diploidní druhy jsou koncentrovány převážně do hypotetických glaciálních refugií. Výjimku zde tvoří jen diploidní cytotyp *H. umbellatum*. U druhů podrodu *Chionoracium* nebyly zjištěny jiné než diploidní chromozómové počty.
2. U polyploidních cytotypů nebyla prokázána přítomnost zbytkové sexuality. Diploidní cytotypy podrodu *Hieracium* se šíří sexuální allogamickou cestou. Přítomnost autogamie nebyla prokázána. Sexuálně se množící zástupci podrodu *Chionoracium* vykazují vysoký podíl autogamie.
3. Hodnoty velikosti genomu silně korelují s evolučními vztahy rekonstruovanými pomocí molekulární fylogeneze, s výjimkou druhu *H. transylvanicum*. Ta rozdělila druhy do dvou hlavních vývojových linií, signifikantně odlišných velikostí genomu. Některé druhy klasifikované molekulární fylogenezí jako hybridogenní mezi dvěma hlavními vývojovými liniemi mají větší velikost genomu (C_x) než zástupci obou rodičovských linií. Nalezená vnitrodruhová variabilita je vysvětlována přítomností rostlin hybridogenního původu či mnohonásobným vznikem polyploidních cytotypů. Oba studované podrody (*Hieracium* a *Chionoracium*) jsou monoploidní velikostí genomu (C_x) nápadně odlišné.

Použitá literatura

- Albach, D.C., & Greilhuber, J. 2004. Genome size variation and evolution in Veronica. *Annals of Botany*, **94**, 897–911.
- Aparicio, A. 1994. Karyological studies in Hieracium baeticum (Asteraceae) from the “Parque Natural de la Sierra de Grazalema” (Southern Spain). *Flora Mediterranea*, **4**, 25–34.
- Astanova, S.B. 1989. Khromosomnye chisla predstavitelej slozhnocvetnykh flory Tadzhikistana. In: Tesizy II Symp. Plant Karyology S. 89–90, Novosibirsk. *Tesizy II Symp. Plant Karyology*, **S**, 89–90, Novosibirsk.
- Baack, E.J, Whitney, K.D, & Rieseberg, L.H. 2005. Hybridization and genome size evolution: timing and magnitude of nuclear DNA content increases in Helianthus homoploid hybrid species. *New Phytologist*, **167**, 623–630.
- Babcock, E.B., & Stebbins, G.L. 1937. The genus Youngia. *Carnegi Inst. of Washington Publ*, **484**.
- Bancheva, S., & Greilhuber, J. 2006. Genome size in Bulgarian Centaurea s.l. (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution*, **257**, 95–117.
- Barakat, A., Carels, N., & Bernardi, G. 1997. The distribution of genes in the genomes of Gramineae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 6857–6861.
- Beaman, J.H. 1990. Revision of Hieracium (Asteraceae) in Mexico and central America. *Systematic Botany Monographs*.
- Belaeva, V.A., & Siplivinnsky, V. 1976. Chromosome numbers and taxonomy of some species of Baikal flora. *Bot. Zurn*, **61 (6)**, 873–880.
- Bennett, M.D. 1976. DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environmental and Experimental Botany*, **16(2–3)**, 93–98.

- Bennett, M.D., & Leitch, I.J. 1995. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany*, **76**, 113–176.
- Bennett, M.D., & Leitch, I.J. 2005. Plant DNA C-values Database (release 5.0, December 2004). Accessed 28 December 2007.
- Bennetzen, J.L., & Kellogg, E.A. 1997. Do plants have a one-way ticket to genomic obesity? *Plant Cell*, **9**, 1509–1514.
- Bennetzen, J.L., Ma, J.X., & Devos, K.M. 2005. Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of Botany*, **95**, 127–132.
- Bergman, B. 1941. Studies on the embryo sac mother cell and in development in *Hieracium* subg. *Archieracium*. *Svensk Bot. Tidskr.*, **35**, 1–45.
- Blake, S. F. 1922. New palnts from Guatemala and Honduras. *Contr. U. S. Natl. Herb.*, **24**, 1–32.
- Bottini, M., Greizerstein, E., Aulicino, M., & Poggio, L. 2000. Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NW Patagonian species of *Berberis* L. (Berberidaceae). *Annals of Botany*, **86**, 565–573.
- Bräutigam, S., & Bräutigam, E. 1996. Determination of the ploidy level in the genus *Hieracium* subgenus *Pilosella* (Hill) S.F.Gray by flow cytometric DNA analysis. *Folia Geobotanica and Phytotaxonomica*, **31**, 315–321.
- Buitendijk, J.H., Boon, E.J., & Ramanna, M.S. 1997. Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Annals of Botany*, **79**, 343–353.
- Bureš, P., Yi-Feng Wang, Horová, L., & Suda, J. 2004. Genome size variation in Central European species of *Cirsium* (Compositae) and their natural hybrids. *Annals of Botany*, **94**, 353–363.
- Burton, G.W., & Hanna, W.W. 1992. Using apomictic tetraploids to make a self-incompatible diploid pensacola bahiagrass clone set seed. *J. Heredity*, **83**, 305–306.
- Buttler, K.P. 1991. *Hieracium*. — In: Strid, A. nad Tan K. (Eds.). *Mountain flora of Greece*, **2**, 595–642.
- Castro, M., Mateo, G., & Rosseló, J.A. 2007. Chromosome numbers in *Hieracium* and *Pilosella* species (Asteraceae) from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. *Bot. J. Linn. Soc.*, **153**, 311–320.

- Ceccarelli, M., Falistocco, E., & Cionini, P.G. 1992. Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. *Theoretical and Applied Genetics*, **83**, 273–278.
- Ceccarelli, M., Minelli, S., Maggini, F., & Cionini, P.G. 1994. Genome size variation in *Vicia faba*. *Heredity*, **74**, 180–187.
- Christoff, M. 1942a. Die genetische Grundlage der apomiktischen Fortpflanzung bei *Hieracium aurantiacum* L. *Zeitschr. Indukt. Abst. Vererb.*, **80**, 103–125.
- Christoff, M., & Popoff, A. 1933. Cytologische Studien über die Gattung *Hieracium*. *Planta*, **20**, 440–447.
- Chrtek, J. 2004. *Květena České Republiky 7*. Academia, Praha.
- Chrtek, J. Jun. 1994. Chromosome numbers in selected *Hieracium* species in the Krkonoše Mts. (the West Sudeten). *Folia Geobot. Phytotax.*, **29**, 91–100.
- Chrtek, J. jun. 1996. Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* (Compositae) in the Sudeten Mts. and the Western and Ukrainian Eastern Carpathians. *Fragm. Florist. Geobot.*, **41**, 783–790.
- Chrtek, J. jun. 1997. Taxonomy of the *Hieracium alpinum* group in the Sudeten Mts and the West and Ukrainian East Carpathians. *Folia Geobot. Phytotax.*, **32**, 67–91.
- Chrtek, J. jun., Mráz, P., & Severa, M. 2004. Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* s.str. (*Hieracium* subgen. *Hieracium*) in the Western Carpathians. *Preslia*, **76**, 119–139.
- Chrtek, J. jun., Mráz, P., Zahradníček, J., Mateo, G., & Szelag, Z. 2007. Chromosome numbers and DNA ploidy levels of selected species of *Hieracium* s.str. (Asteraceae). *Folia Geobotanica*, **42**, 411–430.
- Creber, H.M.C., Davies, M.S., Francis, D., & Walker, H.D. 1994. Variation in DNAC value in natural populations of *Dactylis glomerata* L. *New Phytologist*, **128**, 555–561.
- Cruz-Garcia, F., & McClure, B.A. 2001. Sexual incompatibility. In: Bhojwani S.S. and Soh W.Y. (eds.), Current trends in embryology of angiosperms. *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht*, 167–196.
- Cueto Romero, G., & Blanca López, M. 1986. Números cromosómicos de plantas occidentales. *Anales Jard. Bot. Madrid*, **43**, 403–409.

- Delay, J. 1969. Endemiques Pyrenéennes (Composées). *Cat. Inform. Annuelles Caryosyst. Cytogén.*, **3**, 24.
- DeRetz, B. 1978. Contributions a la connaissance de la flore hiéraciologique de la France et de l'Espagne, 5. Taxons nouveaux pour le genre Hieracium dans les Pyrénées francaises et en Espagne. *Bull. Soc. Bot. France*, **125**, 209–218.
- Desrochers, A.M., & Rieseberg, L.H. 1998. Mentor effects in wild species of Helianthus (Asteraceae). *Am. J. Bot.*, **85**, 770.
- Doležel, J., & Doleželová, M. Novák, F. 1994. Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). *Biologia Plantarum*, **36**, 351–357.
- Dostál, J. 1989. *Nová květena ČSSR 2, p. 1160–1173*. Academia, Praha.
- Dyer, A.F. 1963. The use lacto-propionic orcein in rapid squash method for chromosome reparations. *Stain technol.*, **38**, 85–90.
- Favarger, C. 1965. Notes de caryologie Alpine IV. *Bull. Soc. Neuchâteloise Sci. Nat.*, **88**, 5–60.
- Favarger, C. 1969a. Notes de Caryologie Alpine V. *Bull. Soc. Neuchâtel Sci. Nat.*, **92**, 13–30.
- Favarger, C. 1969b. Report on Hieracium prenanthoides. In Löve Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports XXII. *Taxon*, **18**, 435.
- Fehrer, J., Krak, K., & Chrtek, J. Jun. Molecular evolution in diploids and apomictic polyploids of Hieracium (Lactuceae, asteraceae): a history of deep divergence, reticulation and extinct variation. (manuscript).
- Fehrer, J., Gemenholzer, B., Chrtek, J., & Bräutigam, S. 2007. Incogruent plastid and nuclear DNA phylogenies reveal ancient intergeneric hybridization in Pilosella hawkweeds (Hieracium, Cichorieae, Asteraceae). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, **42**, 347–361.
- Fernald, M. L. 1943. Notes on Hieracium. Rhodora. *Rhodora*, **45**, 317–325.
- Flavell, R.B., Rimpau, J., & Smith, D.B. 1977. Repeated sequence DNA relationships in four cereal genomes. *Chromosoma*, **63**, 205–222.

- Gadella, T.W.J. 1987. Sexual tetraploid and apomictic pentaploid populations of *Hieracium pilosella* (Compositae). *Plant Systematics and Evolution*, **157**, 219–246.
- Galbraith, D.W., Harkins, K.R., Maddox, J. M., Ayres, N.M., Sharma, D.P., & Firoozabady, E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science*, **220**, 1049–1051.
- Garland, M.A. 1990. Infrageneric names applicable to *Hieracium* subgenus *Chionora-cium* (Compositae: Lactuceae). *Taxon*, **39**, No. 1, 119–124.
- Garnatje, T., Garcia, S., & Canela, M.Á. 2007. Genome size variation from a phylogenetic perspective in the genus *Cheirolopus* Cass. (Asteraceae): biogeographic implication. *Plant Systematics and Evolution*, **264**, 117–134.
- Gaskin, J.F., & Wilson, L.M. 2007. Phylogenetic relationships among native and naturalized hieracium (asteraceae) in Canada and the United States based on plastid DNA sequences. *Systematic Botany*, **32**(2), 478–485.
- Gentcheff, G., & Gustafsson, A. 1940. The balance system of meiosis in *Hieracium*. *Hereditas*, **26**, 209–249.
- Govindaraju, D.R., & Cullis, C.A. 1991. Modulation of genome size in plants: the influence of breeding systems and neighbourhood size. *Evolutionary Trends in Plants*, **5**, 43–51.
- Greilhuber, J. 1998. Intraspecific variation in genome size: a critical reassessment. *Annals of Botany*, **82**, 27–35.
- Greilhuber, J., & Speta, F. 1985. Geographical variation of genome size at low taxonomic levels in the *Scilla bifolia* alliance (Hyacinthaceae). *Flora*, **176**, 431–439.
- Gustafsson, A. 1974. Apomixis in higher plants II. The causal aspect of apomixis. *Acta Univ. Land. N. F. Adv.*, **43** (2), 69–179.
- Hayirlioglu-Ayaz, S., & Inceer, H. 2004. Chromosome numbers of some species of the genus *Hieracium* s.str. (Asteraceae) from Turkey. *Folia Geobotanica*, **39**, 319–325.
- Keelogg, E.A., & Bennetzen, J.L. 2004. The evolution of nuclear genome structure in seed plants. *American Journal of Botany*, **91**, 1709–1725.
- Krahulcová, A., & Krahulec, F. 1999. Chromosome numbers and reproductive systems in selected representatives of *Hieracium* subgen. *Pilosella* in the Krkonoše Mts (the Sudeten Mts). *Preslia*, **71**, 217–234.

- Krahulcová, A., Krahulec, F., & Chapman, H. M. 2000. Variation in Hieracium subgen. Pilosella (Asteraceae): What do we know about its sources? *Folia Geobotanica*, **35**, 319–338.
- Labani, R.M., & Elkington, T.T. 1987. Nuclear DNA variation in the genus Allium L. (Liliaceae). *Heredity*, **59**, 119–128.
- Laurie, D.A., & Bennett, M.D. 1985. Nuclear DNA content in the genera Zea and Sorghum. Intergeneric, interspecific and intraspecific variation. *Heredity*, **55**, 307–313.
- Lavrenko, A.N., & Serdinov, N.P. 1987. Chisla khromosom nekotorykh predstavitelei flory Urala (Komi ASSR) (Chromosome numbers of selected species of the Ural Mts. (Komi Republic)). *Bot. Zhurn.*, **72**, 846–847.
- Leitch, I., & Bennett, M.D. 2004. Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society*, **82**, 651–663.
- Lysák, M.A., & Doležel, J. 1998. Estimation of nuclear DNA content in Sesleria (Poaceae). *Caryologia*, **51**, 123–132.
- Lysák, M.A., Rostková, A., Dixon, J.M., Rossi, G., & Doležel, J. 2000. Limited genome size variation in Sesleria albicans. *Annals of Botany*, **86**, 399–403.
- Marcuci, R., & Tornadore, N. 1999. Mediterranean chromosome number reports 9 (1089–1098). *Fl. Medit.*, **9**, 372–378.
- Marxmuller, H. 1975. Diploide Hieracien. *Anales Inst. Bot. Cavanilles*, **32**, 89–196.
- Mateo, G. 1996. Sobre los táxones del género Hieracium L. (Compositae) descritos como nuevos en espana, II. letras C–D. *Flora Montiberica*, **3**, 19–30.
- Mateo, G. 1998. Sobre los táxones del género Hieracium L. (Compositae) descritos como nuevos en espana, V. letras N–Z. *Flora Montiberica*, **9**, 53–78.
- Mateo, G. 2005. Aportaciones al conocimiento del género Hieracium en España, X. Novedades para el Pirineo catalán. *Flora Montiberica*, **31**, 62–69.
- Menken, S.B.J., Morita, T., Wardennar, E.C.P., & Boersma, A. 1989. Genetic interpretation of enzyme variation in sexual and agamosperous taxa of Taraxacum sections Vulgaria and Mongolica. *Genetica*, **78**, 111–119.

- Moore, D.M. 1982. Flora Europaea check-list and chromosome index. 423 S. *Cambridge University press*, Cambridge.
- Morgan, MT. 2001. Transposable element number in mixed mating populations. *Genetical Research*, **77**, 261–275.
- Mráz, P. 2003b. Mentor effects in the genus *Hieracium* s. str. (Compositae, Lactuceae). *Folia Geobot*, **38**, 345–350.
- Mráz, P., Chrtek, J. jun., Fehrer, J., & Plačková, I. 2005. Rare recent natural hybridization in the genus *Hieracium* s.str. – evidence from morphology, allozymes and chloroplast DNA. *Pl. Syst. Evol.*, **255**, 177–192.
- Murray, B.G. 2005. When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? *Annals of Botany*, **95**, 119–125.
- Májovský, J. 1970a. Index of chromosome numbers of Slovakian flora. *Acta Fac. Rer. Natur. Univ. Comen.*, **16**, 1–26.
- Májovský, J., Murín, A., Feráková, V., Hindáková, M., Schwarzova, T., Uhríková, A., Váchová, M., & Záborský, J. 1987. Karyotaxonomický prehľad flóry Slovenska (Karyotaxonomic survey of the Slovak flora). *Veda*.
- Měsíček, J., & Jarolímová, V. 1992. *List of chromosome numbers of the Czech vascular plants*. Academia, Praha.
- Natarajan, G. 1988. étude caryosystématique de quelques dicotyledones de la Garrigue Languedocienne. *Naturalia Monspeliensia*, **52**, 85–123.
- Niketić, M., Bareka, P., & Kamari, G. 2003. Karyosystematic study of selected *Hieracium* taxa (Compositae) from Durmitor Mt (Montenegro). *Bot. Chron.*, **16**, 23–45.
- Niketić, M., Vladimirov, V., & Mráz, P. 2006. Chromosome numbers and taxonomic-chorological notes on selected species of *Hieracium* s.str. (Asteraceae) from Montenegro. *Phytologia Balcanica*, **12**, 85–97.
- Nogler, G.A. 1984. *Gametophytic apomixis*. In *Embryology of angiosperms*. Berlin, Germany. pp. 475–518.
- Nägeli, C., & Peter, A. 1885. *Die Hieracien Mittel-Europas. Monographische Bearbeitung der Piloselloiden mit besonderer Berücksichtigung der Mitteleuropäischen Sippen*. - R. Oldenbourg, München. R. Oldenbourg, München.

- Otto, F. 1990. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. *Methods in Cell Biology*, **33**, 105–110.
- Papanicolau, K. 1984. Report on *Hieracium pannosum*]. In: LÖVE Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports LXXXII. *Taxon*, **33**, 130.
- Pecinka, A., Suchánková, P., Lysak, M.A., Trávníček, B., & Doležel, J. 2006. Nuclear DNA content variation among Central European *Koeleria* taxa. *Annals of Botany*, **98**, 117–122.
- Petrov, D.A. 2002. DNA loss and evolution of genome size in *Drosophila*. *Genetica*, **115**, 81–91.
- Polatschek, A. 1966. Cytotaxonomische Beiträge zur Flora der Ostalpenländer, II. *Österr.Bot. Zeitschr*, **113**, 101–147.
- Price, H.J., Dillon, S.L., Hodnett, G., Rooney, W.L., Ross, L., & Johnson, S. 2005. Genome Evolution in the Genus *Sorghum* (Poaceae). *Annals of Botany*, **95**, 219–227.
- Pulkina, S. V., & Tupitsyna, N. N. 2000. Poliploidnye komplekсы v rode *Hieracium* (Asteraceae). *Turczaninowia*, **3**, 79–81.
- Quézel, P. 1957. Peuplement végétal des hautes montagnes de l'Afrique du Nord. *Encycl. Biogéogr. Écol*, **10**, 1–445.
- Richards, A.J. 1997. *Breeding systems*. London etc.
- Robinson, B.L., & Greenman, J.M. 1904. Revision Mexican and central American species of *Hieracium*. *Proc. Amer. Acad. Arts*, **40**, 14–24.
- Rosenberg, O. 1927. Die semiheterotypische Teilung und ihre Bedeutung für die Entstehung verdoppelter Chromosomenzahlen. *Hereditas*, **8**, 305–338.
- Scannerini, S. 1971. Numeri cromosomici per la flora Italiana (Chromosome numbers of the Italian flora). *Inform. Bot. Ital.*, **3**, 66–67.
- Scholte, G. 1977. [Report on *Hieracium piliferum*]. In: LÖVE Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports LVI. *Taxon*, **26**, 258–259.
- Schuhwerk, F. 1996. Published chromosome counts in *Hieracium*.
- Schuhwerk, F., & Lippert, W. 1998. Chromosomenzahlen von *Hieracium* (Compositae, Lactuceae) Teil 2. *Sendtnera*, **5**, 269–286.

Použitá literatura

- Schuhwerk, F., & Lippert, W. 1999. Chromosomenzahlen von Hieracium (Compositae, Lactuceae) Teil 3. *Sendtnera*, **6**, 197–214.
- Sell, P.D. 1987. An introduction to the study of the British Hieracia, 1. History and classification. *Watsonia*, **16**, 365–371.
- Sell, P.D., & West, C. 1975. 115. Hieracium L. — In. Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey*, **5**, 696–763, Edinburg.
- Sell, P.D., & West, C. 1976. Hieracium L. — In. Tutin T.G. et al. (eds.). *Flora Europaea, Cambridge*, **4**, 358–410.
- Skawińska, R. 1963. Apomixis in Hieracium alpinum L. *Acta Biol. Cracov.*, **5**, 7–14.
- Sleumer, H. 1956. Die Hieracien Argentiniens unter Berücksichtigung der Nachbarländer. *Bot. Jahrb. Syst.*, **77**, 85–148.
- Sokolovskaya, A. P., & Strelkova, O. S. 1960. Geograficheskoe rasprostranenie poliploidnykh vidov v Evraziyskoy Arktike. *Bot. Zhurn.*, **45**, 369–381.
- Stace, C.A. 1998. Sectional names in the genus Hieracium (Asteraceae) sensu stricto. *Edinb. J. Bot.*, **55**, 417–441.
- Strid, A., & Franzén, R. 1981. in Chromosome number reports LXIX. *Taxon*, **29**, 709–710.
- Strother, J.L. 2006. Hieracium. *American north of Mexico*, **19–21**, 278–294.
- Suda, J., Krahulcová, A., Trávníček, P., Rosenbaumová, R., Peckert, T., & Krahulec, F. 2007. Genome size variation and species relationships in Hieracium sub-genus Pilosella (Asteraceae) as inferred by flow cytometry. *Annals of Botany*, **100**, 1323–1335.
- Swift, H. 1950. The constancy of deoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **36**, 643–654.
- Szeląg, Z., & Jankun, A. 1997. Tetraploid Hieracium Alpinum in the Polish Tatra Mts. *Fragm. Florist. Geobot.*, **42**, 190–192.
- Szeląg, Z., & Vladimirov, V. 2005. Chromosome numbers of Polish Hieracia (Asteraceae). *Polish Bot. J.*, **50**, 139–143.

- Szeląg, Z., Ilnicki, T., Niketić, M., & Tomovć, G. 2007. Diploid chromosome numbers in five *Hieracium* species from Serbia and Montenegro. *Acta biologica cracoviensia Series Botanica*, **49/1**, 119–121.
- Tas, I.C.Q., & Van Dijk, P. 1999. Crosses between sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum*). I. Inheritance of apomixis. *Heredity*, **83**, 707–714.
- Thalman, C., Guadagnuolo, R., & Felber, F. 2000. Search for spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.) in agricultural zones and evaluation of the genetic diversity of the wild species. *Botanica Helvetica*, **111**, 107–119.
- Vladimirov, V. 2000. Diploid species of the genus *Hieracium* s.l. in Bulgaria. *Abhandlungen und Berichte des Naturkundemuseums Görlitz*, **72**, 16.
- Vladimirov, V. 2003. A new diploid *Hieracium* (Asteraceae: Lactuceae) from Bulgaria. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **143**, 213–218.
- Vladimirov, V., & Szelag, Z. 2001a. In: Kamariš G, Blanché C, and Garbari F [eds], Mediterranean chromosome number reports 11. *Flora Mediterranea*, **11**, 478–483.
- Vladimirov, V., & Szelag, Z. 2006. A new diploid species of *Hieracium* sect. *Pannosa* (Asteraceae) from Bulgaria. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **150**, 261–265.
- Vogt, R., & Oberprieler, Ch. 1994. Chromosome numbers of North African phanerogams. IV. *Candollea*, **49**, 549–570.
- Volkova, S.A., & Boyko, E.V. 1986. Chromosome numbers in some species of Asteraceae from the southern part of the Soviet far east. *Bot. Zurn.*, **71**, 1693.
- Weiss-Schneeweiss, H., Greilhuber, J., & Schneeweiss, G.M. 2006. Genome size evolution in holoparasitic Orobanchaceae (Orobanchaceae) and related genera. *American Journal of Botany*, **93**, 148–156.
- Wendel, J.F., Cronn, R.C., Johnston, S., & Price, H.J. 2002. Feast and famine in plant genomes. *Genetica*, **115**, 37–47.
- Zahn, K.H. 1921–1923. *Hieracium*. — In: Engler A. (ed.). *Das Pflanzenreich*, **IV**, 280 Leipzig.
- Zahn, K.H. 1922–1938. *Hieracium*. — In: Graebner P. fil (ed.). *Synopsis der mitteleuropäischen Flora*, **XII**, 1–3, Gebrüder Borntraeger, Leipzig.

Použitá literatura

- Zonneveld, B.J.M. 2001. Nuclear DNA content of all species of Helleborus (Ranunculaceae) discriminate between species and sectional division. *Plant Systematics and Evolution*, **229**, 125–130.
- Záveský, L., Jarolímová, V., & Štěpánek, J. 2005. Nuclear DNA content variation within the genus Taraxacum (Asteraceae). *Folia Geobotanica*, **40**, 91–104.
- Šiško, M., Ivanić, A., & Bohanec, B. 2003. Genome size analysis in the genus Cucurbita and its use for determination of interspecific hybrids obtained using the embryo-rescue technique. *Plant Science*, **165**, 663–669.

Seznam obrázků

3.1	Areály jednotlivých skupin rodu <i>Hieracium</i> dle Zahna (1921-1923)	10
5.1	Zastoupení jednotlivých cytotypů hlavních druhů podrodu <i>Hieracium</i> .	14
5.2	Mapa rošíření cytotypů „hlavních“ druhů.	22
6.1	Plná nažka druhu <i>H. glaucum</i> All.	26
6.2	Prázdná nažka druhu <i>H. glaucum</i> All.	28
6.3	Graf procentuelního zastoupení plných nažek v izolovaných a kontrolních úborech druhu <i>Hieracium</i> sp.	30
7.1	Diagram ukazující rozdíly monoploidní velikosti genomu mezi podrody <i>Hieracium</i> a <i>Chionoracium</i> .	36
7.2	Histogram 2C hodnot velikosti genomu podrodu <i>Hieracium</i> .	36
7.3	Výstup z cytometrické analýzy zaznamenávající nejmenší nalezený genom (Cx) diploidního druhu <i>H. stelligerum</i> . Poměr píku standardu (1) vůči píku vzorku (2) je 1.294. CV vzorku - 1.97 a CV standardu (<i>Zea mays</i>) - 1.66.	37
7.4	Výstup z cytometrické analýzy zaznamenávající největší nalezený genom (Cx) triploidního druhu <i>H. virosum</i> . Poměr píku standardu (1) vůči píku vzorku (2) je 1.432. CV vzorku - 1.96 a CV standardu (<i>Pisum sativum</i>) - 1.83	37
7.5	Histogram Cx hodnot velikosti genomu podrodu <i>Hieracium</i> .	38
7.6	Fylogenetický strom na bázi ETS bazí (Fehrer et al.)	43
7.7	Porovnání velikostí genomu (1Cx) skupin podrodu <i>Hieracium</i> oddělených molekulární fylogenezí (bez <i>H. transylvanicum</i>).	44
7.8	Graf ukazující na trend poklesu velikosti genomu s rostoucí ploidní úrovní.	45
7.9	Porovnání velikosti genomu (Cx) mezi skupinami s odlišnými reprodukčními možnostmi.	46
7.10	Výstup z cytometrické analýzy dvou odlišných populací <i>H. amplexicaule</i> potvrzující nalezenou vnitrodruhovou variabilitu.	48

Seznam tabulek

5.1	Chromozómové počty zjištěné autorem předložené práce.	13
6.1	Výsledky testů porovnávající zastoupení plných nažek mezi emaskulovanými a kontrolními úbory polyploidních druhů. A) - Apomixie. . .	27
6.2	Tabulka zastoupení plných nažek v souborech izolovaných a kontrolních úborů diploidních druhů. AL) - Allogamie	27
7.1	Průměrné hodnoty CV pro jednotlivé druhy	35
7.2	Tabulka velikostí genomu.	39
7.3	Porovnání genomů „podrodů“ rodu <i>Hieracium</i>	47

Přílohy

Seznam příloh

1. Tabulka lokalit
2. Chromosome numbers and DNA ploidy levels of selected species of *Hieracium* s. str. (Asteraceae) - publikovaný článek
3. Strong phylogenetic component of genome size variation in *Hieracium* subgen. *Hieracium* (Compositae) - koncept článku

Příloha

Tabulka 8.1

Species	Acc. no	Locality (S – plants cultivated from seeds)
<i>H. alpinum</i> L.	H 1076	Ukraine: Oblast Zakarpatska, Chornohora Mts.: Mt. Pip Ivan Chornohirs'kyi (2020 m), summit area, 20 km E of the village of Bohdan, 2010m, 24° 37' 45" E, 48° 02' 45" N, 31 July 2005, leg. J. Zahradníček
	H 1316	France: dépt. Hautes Alpes, Beaufort, Col Cornet de Rosseland, W of the saddle, 2127 m, 06° 41' 48" E, 45° 41' 10" N, 16 July 2006, leg. P. Mráz & M. Puškaš
<i>H. amplexicaule</i> L.	H 1050	Austria: Carinthia, Hohe Tauern, Goldberggruppe: Innerfragant, near the old (unmarked) path to the Fraganter Hütte, ca 1 km SW of the village, rocks above the brook, 1233 m, 13° 04' 20" E, 46° 57' 56" N, 28 July 2005, leg. J. Chrtek & P. Mráz
	H 1055	Austria: Carinthia, Hohe Tauern, Ankogelgruppe: Stappitz near Mallnitz, Seebach valley, Zelenigleiten, 4 km NE of the village, wet rocks, 1360 m, 13° 10' 45" E, 47° 01' 12" N, 29 July 2005, leg. J. Chrtek
	P 354	Spain: Catalunya, prov. Gerona: Queralls, along the tourist path from Dalió de Baix to Refugi Menelic, near the brook of Fresser, 1750–1950 m, 2° 10' E, 42° 23' N, 24 August 1996, leg. K. Marhold
	P 1366	France: dépt. Hautes Alpes, La Grave, gravel alluvium below the village, 1500 m, 06° 18' 21" E, 45° 02' 37" N, June 2003, leg. P. Mráz
	H 1073	Italy: Trentino-Alto Adige, Gruppo dell' Adamello: Passo del Tonale, Mt. Monticello, E slope, near the road, 2 km SE of the saddle (monument), 2180 m, 10° 36' 33" E, 46° 14' 42" N, 29 August 2005, leg. J. Chrtek & P. Mráz
<i>H. bifidum</i> Kit.	H 1213	Slovakia: Orava, distr. Tvrdošín, Oravice: Juráňova dolina-Tiesňavy, 3 km SE of the village, limestone gorge, 930 m, 19° 46' 19" E, 49° 16' 31" N, 15 August 2006, leg. J. Chrtek
	H 1313	Czechia: Central Bohemia, distr. Beroun: Svatý Jan pod Skalou, calcareous rocks behind the monastery, 245 m, 14° 08' 07" E, 49° 58' 10" N, 15 June 2006, leg. V. Zavadil
	H 1314	Czechia: NE Bohemia, distr. Semily, Krkonoše Mts.: Mt. Kotel, Koielský hřebínek between the glacial cirques, 5.8 km NW of the village of Špindlerův Mlýn, 1350 m, 15° 32' 00" E, 50° 45' 05" N, June 2007, leg. V. Zavadil & J. Chrtek
<i>H. bracteolatum</i> Sibth. & Sm.	H 1240	Greece: Thessalia, Pilion Mts., Agriolefkes, 1400 m, leg. Binder et al. (S, BGBM Berlin-Dahlem)
<i>H. bupleuroides</i> C.C. Gmel. I.	H 1033	Slovakia: distr. Ilava, Biele Karpaty Mts.: Vršatské Podhradie, castle ruins of Vršatec, 770 m, 18° 09' 00" E, 49° 03' 57" N, 15 June 2005, leg. J. Chrtek
<i>H. bupleuroides</i> C.C. Gmel. II.	H 1209	Slovakia: distr. Tvrdošín, Chočské vrchy Mts.: Kvačianska dolina valley, upper part, 2 km SW of the church in the village of Hutý, limestone rocks, 765 m, 19° 32' 58" E, 49° 12' 16" N, 17 August 2006, leg. J. Chrtek & S. Chrtková
	H 1212	Slovakia: Orava, distr. Tvrdošín, Oravice: Juráňova dolina-Tiesňavy, 3 km SE of the village, limestone gorge, 930 m, 19° 46' 19" E, 49° 16' 31" N, 15 August 2006, leg. J. Chrtek
	H 1063	Austria: Oberösterreich, Dachstein massif: Vorderer Gosausee (mountain lake), rocks on NW bank, 6 km SSW of the village of Gosau, 940 m, 13° 29' 55" E, 47° 31' 53" N, 13 August 2005, leg. J. Chrtek, det. F. Schuhwerk
	H 1062	Slovakia: distr. Poprad, Slovenský raj region: Vernár, S part of the village, limestone slopes above the road, 780 m, 20° 16' 07" E, 48° 54' 50" N, 5 August 2005, leg. J. Chrtek & K. Chrtková
	P 1235	Austria: Austria, Allgäuer Alpen, Baad: between Starzel Joch (1867 m) and Hochstarzel (1974 m), 1920 m, 10° 05' 06" E, 47° 18' 26" N, 20 July 2002, leg. P. Mráz
<i>H. caesium</i> (Fr.) Fr.	H 1231	Sweden: prov. Gotland, par. Hall, open limestone scree by the sea 1.3 km SE of Hallshuk (close to the NW point of the island of Gotland ca 40 km NNE of Visby), 20 m, 18° 43' E, 57° 55' N, July 2006, leg. et det. T. Tyler & A. Semnikov
	H 1227	Sweden: prov. Gästrikland, par. Hille: dry road/forest margin at Oslättfors, ca 15 km NW of Gävle, 30 m, 16° 59' E, 60° 43' N, July 2006, leg. et det. T. Tyler
<i>H. cerinthoides</i> L.	H 1176	Spain: Catalunya, prov. Lérida, Pirineus Mts: Os de Civis, 1 km WSW of the village, margin of a pasture, 1720 m, 1° 25' 46" E, 42° 26' 47" N, 21 July 2006, leg. J. Chrtek, G. Mateo & J. A. Rosselló, det. G. Mateo
<i>H. cordifolium</i> Lapeyr.	H 1177	Andorra: Pirineus Mts, Bixessarri (NW of Sant Julià de Lòria), valley of Torrent dels Limois, rocks and margins of a path ca 100 m from the street, 1.5 km NW of the village, 1305 m, 1° 26' 44" E, 42° 29' 33" N, 21 July 2006, leg. J. Chrtek, G. Mateo & J. A. Rosselló, det. G. Mateo
<i>H. eriophorum</i> St.-Amans	H 1221	France: dépt. Landes, Labenne: plage de Labenne Océan Sud, 10 m, 1° 27' 20" W, 43° 36' 17" N, 27 September 2006, leg. E. Forey (S)
	H 1223	France: dépt. Landes, Vieux-Boucau-les-Bains: plage de Vieux-Boucau, 10 m, 1° 24' 27" W, 43° 47' 47" N, 27 September 2006, leg. E. Forey (S)
<i>H. glaucum</i> All.	H 1081	Slovenia: Primorska region, Juljske Alpe Mts., Trenta: ca 1 km W of the village of Podklancec, near the road Vršič – Bovec, 425 m, 13° 38' 03" E, 46° 20' 16" N, 9 November 2005, leg. B. Vreš & J. Chrtek
	H 1232	Slovenia: Primorska region, Juljske Alpe Mts.: Zadnjica valley, along the marked path to the Luknja saddle, 4 km E of the village of Trenta, ca 1100 m, 13° 48' 18" E, 46° 22' 28" N, 8 August 2005, leg. V. Zavadil

H 1230		Slovenia: Julijske Alpe Mts., village of Trenta: Zadnja Trenta valley, 0.5 km W of the chalet "Koča pro izviru Soče", margin of gravel alluvium, 910 m, 13° 43' 41" E, 46° 24' 22" N, September 2006, leg. J. Chrtk
H 1171	<i>H. gouani</i> Arv.-Touv.	Spain: Catalunya, prov. Gerona: rocks at the road between Ripoll and Ribes de Freser, 1290 m, 2° 10' 02" E, 42° 15' 27" N, 24 July 2006, leg. J. Chrtk
H 1215	<i>H. gymnocephalum</i> Griseb. ex Pant.	Albania: NW part, Jezercë, 21 km NW of Bajram Curri, 1800 m, 19° 50' 23" E, 42° 25' 46" N, August 2006, leg. J. Zahradniček, det. Z. Szélag & V. Vladimirov
H 1172	<i>H. gymnocerinthae</i> Arv.-Touv. & G. Gaut.	Spain: Catalunya, prov. Lérida, distr. La Seu d'Urgell: Adraén, Serra del Cadí mountain ridge, NW slopes, 1 km SE of the village, 1600 m, road margin in a pine forest with dominating <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> , 1° 30' 34" E, 42° 16' 15" N, 23 July 2006, leg. J. Chrtk, G. Mateo & J. A. Rosselló, det. G. Mateo
H 1250	<i>H. heterogynum</i> (Froel.) Guterm.	Montenegro: Kotor, Mt. Lovćen, 1350 m, 18° 47' E, 42° 23' N, 20 August 2006, leg. M. Niketić (S)
H 1064	<i>H. humile</i> Jacq.	Austria: Oberösterreich, Dachstein massif: Vorderer Gosausee (mountain lake), rocks on NW bank, 6 km SSW of the village of Gosau, 940 m, 13° 29' 55" E, 47° 31' 53" N, 13 August 2005, leg. J. Chrtk
H 1188		France: Le Midi, dépt. Aude, Corbières Mts: Bugarach, Mt. Pech de Bugarach, 1130 m, 2° 22' 47" E, 42° 52' 06" N, 27 July 2006, leg. J. Chrtk
H 1228	<i>H. kittanae</i> Vladimirov	Bulgaria: Central Rhodope Mts.: Trigrad gorge, limestone rocks near the natural entrance to Dyavolskoto garlo cave, 750–800 m, September 2005, leg. P. Ignatova
H 1150	<i>H. lachenalii</i> Suter	Czechia: Bohemia, distr. Rakovník: forest between the villages of Roztoky and Křivoklát, 350 m, 13° 52' 22" E, 50° 01' 54" N, 29 May 2006, leg. J. Zahradniček
H 1160		Czechia: Moravia, distr. Znojmo: Lukov, forest 1.3 km SSW of the village, 410 m, 15° 54' 27" E, 48° 51' 04" N, June 2006, leg. J. Zahradniček
H 1164		Czechia: Central Bohemia, distr. Praha-východ: Tehov, forest margin 1.8 km NE of the village, 430 m, 14° 42' 36" E, 49° 59' 01" N, 27 June 2006, leg. J. Chrtk
H 1031	<i>H. laevigatum</i> Willd.	Czechia: Bohemia, distr. Rokycany: Strašice, N part of the village, margin of a forest, 550 m, 13° 45' 07" E, 49° 44' 51" N, 29 June 2005, leg. J. Chrtk
H 1165		Czechia: Bohemia, distr. Hradec Králové: Hradec Králové, forest 1.2 km SE of the church in Nový Hradec Králové, 270 m, 15° 52' 16" E, 50° 10' 17" N, 1 July 2006, leg. J. Chrtk & K. Chrtková
H 1243		Germany: Sachsen, Kreis Kamenz, Grossgrabe, 180 m, 14° 02' 30" E, 51° 21' 42" N, 2005, leg. Dürbye (S, BGBM Berlin-Dahlem)
H 1175	<i>H. lawsonii</i> Vill.	France: Le Midi, dépt. Aude, Corbières Mts: Bugarach, Mt. Pech de Bugarach, 1130 m, 2° 22' 47" E, 42° 52' 06" N, 27 July 2006, leg. J. Chrtk
H 1302		France: dépt. Hautes-Alpes, Briançon, fortress in the downtown, 1320 m, 6° 38' 07" E, 44° 53' 58" N, 2 August 2007, leg. J. Chrtk
H 875	<i>H. murorum</i> L.	Czechia: Bohemia, distr. Plzeň: Plzeň, village of Koterov, street "V závrtku", 0.6 km SSW of the railway station "Plzeň-Koterov", slopes along the street, ca 320 m, 13° 25' 07" E, 49° 43' 02" N, 12 August 2003, leg. M. Král
H 1152		Czechia: NW Bohemia, military area Doupovské hory, 2 km N of the village of Stružná in N direction, along the road, 650 m, 13° 02' E, 50° 18' N, 1 June 2006, leg. J. Zahradniček
H 1030		Czechia: Bohemia, distr. Beroun: Svätý Jan pod Skalou, oak-hornbeam forest 0.8 ENE of the village, 350 m, 14° 08' 30" E, 49° 58' 15" N, 28 May 2005, leg. J. Chrtk
H 1208	<i>H. naegelianum</i> Pančić	Montenegro: Durmitor Mts.: Mt. Veliki Meded, alpine grassland on limestone, 2050 m, 43° 03' 31" N, 19° 04' 13" E, 1 August 2006, leg. and det. Z. Szélag
H 1206	<i>H. olympicum</i> Boiss.	Bulgaria: Stara Planina Mts., Kaloferska Planina Mts.: Valley of Vidima river, 2 km NE of the Kaloferski Monastery, eroded slope in <i>Carpinus orientalis</i> forest, 870 m, 24° 58' 42" E, 42° 40' 36" N, 9 August 2006, leg. and det. Z. Szélag
H 1205	<i>H. pannosum</i> Boiss. I	Bulgaria: Stara Planina Mts., Trojanska Planina Mts.: Mt. Kozja stena, grassy slope on limestone, 1570 m, 42° 47' 27" N, 24° 34' 06" E, 8 August 2006, leg. and det. Z. Szélag
H 1237	<i>H. pannosum</i> Boiss. II	Greece: Peloponnese, Nomos Arkadias, Menalon Mts: Kardaras, limestone, 1100 m, 2005, leg. Raus et al. (S, BGBM Berlin-Dahlem)
H 1229	<i>H. petrovae</i> Vladimirov & Szélag	Bulgaria: Central Rhodope Mts.: Trigrad gorge, crevices of limestone rock (<i>locus classicus</i>), 750–800 m, 41° 39' 55" N, 24° 21' 50" E, 15 October 2005, leg. V. Vladimirov
H 1303	<i>H. pictum</i>	France: dépt. Hautes Alpes, Briançon: pine forest 0.5 km N of the village of Montegenèvre, 1880 m, 6° 42' 27" E, 44° 56' 23" N, 2 August 2007, leg. J. Chrtk et al.
H 1307		France: dépt. Hautes Alpes, Briançon, near a path to Fort des Sallettes, 1360 m, 6° 38' 52" E, 44° 54' 33" N, 2 August 2007, leg. J. Chrtk et al.

		May 2005, leg. J. Chrtek
		Czechia: Central Bohemia, distr. Rakovník, Křivoklát, 320 m, 13° 52' 42" E, 50° 01' 26" N, July 2006, leg. J. Zahradníček
<i>H. stelligerum</i> Froel.	H 1151 H 1233	France: dépt. Ardèche, Vallon Pont d' Arc: crevices of calcareous rocks along the road D 390, opposite of 'le Pont d' Arc', ca 3.5 km SE of the village, 500 m, 04° 24' 10" E, 44° 24' 25" N, October 2006, leg. P. Mráz
<i>H. tomentosum</i> L.	H 1066 H 1301	France: dépt. Alpes Maritimes, valley of la Roya: Tende, along the old road to the Col de Tende, ca 0.5 km above the tunnel, 6 km NNW of the village, 1331 m, 07° 33' 57" E, 44° 08' 19" N, 28 August 2005, leg. J. Chrtek & P. Mráz
	H 1312	France: dépt. Hautes Alpes, Briançon, near a path to Fort des Sallettes, 1360 m, 6° 38' 52" E, 44° 54' 33" N, 2 August 2007, leg. J. Chrtek et al.
<i>H. transsilvanicum</i> Heuff.	H 1077	France: dépt. Hautes Alpes, le Monétier-les-Bains: near a parking place on the road to Col du Lautaret, 6.5 km NW of the village, 1760 m, 6° 27' 50" E, 45° 01' 30" N, 2 August 2007, leg. J. Chrtek et al.
<i>H. umbellatum</i> L.	H 1021 H 1162	Ukraine: Oblast' Zakarpatska, Marmaros'ki Al'py Mts.: Mt. Berlebashka (1480 m), NW slope along the trail (red marked), E of the village of Dilove, 1200 m, 24° 21' 31" E, 47° 56' 13" N, 19 September 2005, leg. J. Zahradníček
	H 1244	Poland: Województwo pomorskie, Baltic coast, Jantar, 5 m, 19° 02' 27" E, 54° 20' 00" N, 27 June 2002, leg. et det. Z. Szlag
	H 1029	Czechia: Bohemia, Praha: Praha-Troja, 'Pustá vinice', heathland along a path, 240 m, 14° 24' 14" E, 50° 07' 18" N, 28 June 2006, leg. J. Chrtek
<i>H. villosum</i> Jacq. I.	H 1305	Germany: Schleswig-Holstein, Nordfriesland, island of Sylt, Hörnum, 20 m, 8° 17' 08" E, 54° 45' 05" N, 2005, leg. Kühn (S. BGBM Berlin-Dahlem)
<i>H. villosum</i> Jacq. II.	H 1315 H 1238	Slovakia: Strážovské vrchy Mts, distr. Ilava: Mt. Strážov, summit region, calcareous rocks, 1310 m, 18° 27' 44" E, 48° 57' 19" N, 18 June 2005, leg. J. Chrtek
<i>H. virosum</i> Pall.	Gua H 1002 H 1093	France: dépt. Savoie, slopes below (N of) Col du Galibier, the mountain lake 10 km S of the village of Valloire, 2380 m, 6° 24' 43" E, 45° 04' 21" N, 3 August 2007, leg. J. Chrtek et al.
Chionoracium		Russia: Rostov-na-Donu, vicinity of the town, 150 m, 39° 49' 41" E, 47° 17' 05" S (S. Botanical Garden Rostov)
<i>H. guatemalense</i> Standley & Steyermark		Russia: Sibéria, Altajskij kraj, W of Barnaul, 220 m, leg. Ristow/Seitz (S. BGBM Berlin-Dahlem)
<i>H. scabrum</i> Froel. ex DC.		Guatemala: Sierra loc Cuchumatanes, 2007, Leg. K. Krak
<i>Hieracium</i> sp.		United States: Michigan, Leg. L. Wilson
		Guatemala: Volcancu Tajumulco, saddle over the village Tuichan, 2007, Leg. K. Krak

CHROMOSOME NUMBERS AND DNA PLOIDY LEVELS OF SELECTED SPECIES OF *HIERACIUM* S.STR. (ASTERACEAE)

Jindřich Chrtek jun.¹⁾, Patrik Mráz^{2,3,4)}, Jaroslav Zahradníček⁵⁾, Gonzalo Mateo⁶⁾ & Zbigniew Szelaġ⁷⁾

1) Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, CZ-252 43 Průhonice, Czech Republic; e-mail chrtek@ibot.cas.cz

2) Institute of Biology and Ecology, P.J. Šafárik University – Faculty of Science, Mánesova 23, SK-041 54 Košice, Slovakia; e-mail mrazpat@upjs.sk

3) Institute of Botany, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 14, SK-845 23 Bratislava, Slovakia

4) Present address: Laboratoire d'Ecologie Alpine, Université Joseph Fourier, UMR UJF-CNRS 5553, PO Box 53, FR-38041 Grenoble Cedex 9, France

5) Department of Botany, Charles University, Benátská 2, CZ-128 01 Praha 2, Czech Republic

6) Botanical Garden and Institute Cavanilles of Biodiversity and Evolutionary Biology, University of Valencia, C/Quart 80, E-46008 Valencia, Spain; e-mail gonzalo.mateo@uv.es

7) Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Lubicz 46, PL-31512 Kraków, Poland; e-mail azszelag@wp.pl

Abstract: Chromosome numbers and /or ploidy levels are reported for 44 species and subspecies of *Hieracium* s.str. from the following European countries: Andorra, Austria, Bulgaria, Czech Republic, France, Italy, Montenegro, Serbia, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden, Switzerland and Ukraine. The chromosome numbers/DNA ploidy levels of *H. bocconeii* (2n ~ 4x), *H. bupleuroides* subsp. *leviceps* (2n = 27), *H. caesioides* subsp. *caesioides* (2n = 27), *H. basifolium* (*H. caesium* agg., 2n = 36), *H. plumbeum* (*H. caesium* agg., 2n = 36), *H. glaucum* subsp. *nipholepium* (2n = 27), *H. gouanii* (2n = 18), *H. gymnocerinthae* (2n = 27), *H. ramondii* (2n = 27), *H. recoderi* (2n = 18), *H. stelligerum* (2n = 18), and *H. tomentosum* (2n = 18, 2n ~ 2x, 2n ~ 3x) were determined for the first time. New ploidy levels are reported for *H. cerinthoides* s.str. (2n = 27), *H. humile* (2n = 36), and *H. tommasinianum* (2n = 27).

Keywords: *Compositae*, Europe, Flow cytometry, Polyploidy

INTRODUCTION

Hieracium L. subgen. *Hieracium* (*Hieracium* s.str.) is one of largest and taxonomically most difficult groups of the *Asteraceae*. It comprises perennial herbs distributed in temperate regions of Europe, Asia, northernmost Mediterranean Africa, and North America (and introduced to several other regions, e.g. to New Zealand). *Hieracium* subgen. *Hieracium* forms an immense agamic complex with a base chromosome number of $x = 9$. Generally, polyploid taxa (triploids, tetraploids, and very rarely pentaploids) prevail in this subgenus (SCHUHWERK 1996, CHRTEK et al. 2004). Diploid species (or diploid cytotypes of otherwise polyploid species) are much less frequent and mostly confined to certain geographical areas. They have been mostly reported from SW Europe, the Eastern Carpathians and Balkan Peninsula (e.g. MERXMÜLLER 1975, CHRTEK 1996, SCHUHWERK & LIPPERT 1998, MRÁZ 2003b, VLADIMIROV 2003, VLADIMIROV & SZELAġ 2006, CASTRO et al. 2007, SZELAġ et

al. 2007). Recently, hexaploids ($2n = 54$) and heptaploids ($2n = 63$) were found in *Hieracium virosum* PALL. (PULKINA & TUPITSYNA 2000).

Until now all examined diploid species are sexual and self-incompatible (SI). However, the SI system can fail under the influence of heterospecific pollen on the stigma (mentor effect; MRÁZ 2003b, MRÁZ & TOMČÍKOVÁ 2004, MRÁZ & PAULE 2006). In contrast, triploids, tetraploids and pentaploids are agamospermous. Development of unreduced embryo sac follows the “*Antennaria* type” of diplospory, i.e., the female meiosis is fully omitted (e.g. NOGLER 1984). All hitherto studied plants showed autonomous endosperm development, i.e., the plants are not dependent on pollination. However, some irregularities have been reported showing remnants of sexual processes in the female meiosis and development of the female gametophyte (BERGMAN 1941, SKAWIŃSKA 1963).

Although chromosome counts for many *Hieracium* species have been published (see e.g. SCHUHWERK 1996), there are still considerable gaps in our knowledge of karyological diversity and its geographic pattern. As ploidy level is well correlated with the mode of reproduction (see above), detailed knowledge of chromosome numbers in particular species plays an important role in forming hypotheses about evolutionary potential of the species and evolutionary processes in the genus. In this paper we report chromosome numbers and/or ploidy levels for 111 accessions (91 accessions for chromosome counts, 19 for flow cytometry, and one for both of them) from 45 taxa from Europe. In most cases we adopted the taxonomic concept proposed by ZAHN (1921–1923). In *Hieracium alpinum* L., *H. caesium* FR., *H. nigrescens* WILLD., *H. rohacsense* KIT. and *H. waldsteinii* TAUSCH (all s.l.) the narrow species concept is accepted (microspecies grouped in an aggregate species/group). Species concept of the section *Cerinthoidea* follows MATEO (2005).

MATERIAL AND METHODS

Plants

Plants were collected between 1996 and 2006 from their natural habitats and transplanted in the experimental gardens in Průhonice near Praha and in Košice, except of *H. eriophorum* ST.-AMANS, which was grown from seeds collected in the field. Pot-grown plants were kept in either field conditions or in an unheated greenhouse. Voucher specimens are deposited in the Herbarium of the Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Průhonice (PRA, plants counted by JC and JZ) and Herbarium of the Institute of Biology and Ecology, P.J. Šafárik University, Košice (KO, plants counted or measured by flow cytometry by PM). The numbers given in parentheses after each locality refer to cultivation numbers.

Chromosome numbers

The studies were made on the root-tip meristems of pot-grown plants. Two different methods were used:

(i) actively growing roots were placed into pretreatment solution of saturated p-dichlorobenzene and kept for 3–4 hours at room temperature, then fixed in a mixture of ethanol and glacial acetic acid (3:1) overnight at 4 °C and stored in cold 70% ethanol at 4 °C

until used. The squash method and staining by lacto-propionic orceine were used (DYER 1963). (Method used by JC and JZ).

(ii) root tip cuttings were pre-treated with 0.5% solution of colchicine for 1.5–3 hours at room temperature, fixed as above, stored in 70% ethanol at 4 °C and hydrolyzed for 7–10 minutes in 1N HCl at 60 °C. The squash and smear method with cellophane replacing the glass covers followed MURÍN (1960). Giemsa solution in phosphate buffer was used as a stain. (Method used by PM).

DNA ploidy level estimation

Analysis of relative nuclear DNA content was performed with a FACSCalibur instrument (Becton Dickinson, USA) equipped with an argon-ion laser exciting at 488 nm in the Laboratory of Flow Cytometry, Institute of Biology and Ecology, P.J. Šafárik University, Košice. Sample preparations were carried out in a two-step procedure (OTTO 1990, DOLEŽEL & GÖHDE 1995). Approximately 1 cm² of leaf tissues of both the sample and the reference internal standard were chopped together for about 30 s in a Petri dish containing 1 ml of ice-cold Otto I buffer (0.1 M citric acid monohydrate + 1 ml 0.5% Tween 20 adjusted to 200 ml and filtered through a 42 µm filter). The filtration of chopped sample through 42 µm nylon mesh was followed by centrifugation at 150 g for 5 min. The supernatant was removed and 100 µl of fresh Otto I buffer was added. The nuclei in the pellet were resuspended and stored for 30 min at room temperature for incubation. For DNA staining 1 ml of Otto II buffer (0.4 M disodium hydrogenphosphate dodecahydrate) including propidium iodid (PI, final concentration 50 µg/ml), ribonuclease (Ribonuclease A R5000, Sigma, final concentration 50 µg/ml), and 2 µl mercaptoethanol was used. As an internal reference standard we used leaves of *Zea mays* CE-777 (2C = 5.43 pg). To estimate DNA ploidy level of analyzed plants, the exact position of peaks of previously counted di-, tri- and tetraploid *Hieracium* taxa to the peak of standard was measured. As diploid taxa we used *H. umbellatum* L. (cult. no. UMB12JP, chromosome number published in MRÁZ 2003b, and further ca. 10 plants of this species cf. TOMČÍKOVÁ 2006 and unpubl.) and *H. tomentosum* (this paper), as triploid *H. sabaudum* s.l. (cult. no. 872, CHRTEK et al. 2004) and tetraploid *H. carpathicum* BESS. (cult. no. 1150, CHRTEK et al. 2004). The ratios between nuclei fluorescence intensity of internal reference (*Zea mays*) and above mentioned *Hieracium* taxa were as follows: *H. umbellatum* (2x) 1.4–1.5, *H. tomentosum* (2x) 1.33–1.37, *H. sabaudum* s.l. (3x) 1.95–2.0 and *H. carpathicum* (4x) 2.5. Coefficient of variations (CV) of the peaks of internal standard adjusted at channel 100 ranged from 3.5% to 6.9% (with the most frequent value about 5.5%), and CV of peaks of measured samples varied between 3.0% and 5.6%. Only plants with clear peak positions corresponding to distinct ploidy level were included in the present study. DNA ploidy level estimations are given by the following formula “2n ~”.

RESULTS AND DISCUSSION

Hieracium alpinum agg.

Hieracium halleri VILL.

2n ~ 3x

Localities

1. Switzerland, cant. Valais, Alpes valaisannes: Col du Grand Saint Bernard, E of the col, 7°10'19" E, 45°52'02" N, 2560 m, 25 August 2005, leg. P. MRÁZ (H1823, analyzed by PM, peak ratio 2.05).
2. Switzerland, cant. Wallis, Walliser Alpen: Furkapass, ca. 200 m S of the col, exposed slopes with *Salix herbacea*, 2457 m, 8°24'49" E, 46°34'22" N, 24 August 2005, leg. P. MRÁZ (H1839, analyzed by PM, peak ratio 2.03).
3. Switzerland, cant. Graubünden, Albula Alpen: Davos, Flüelapass col, 2354 m, 9°57'54" E, 46°44'36" N, 22 August 2005, leg. P. MRÁZ (H1829, analyzed by PM, peak ratio 1.94).

Triploid chromosome counts were reported from the Western Carpathians (CHRTEK 1997b, MRÁZ 2001, ŠTORCHOVÁ et al. 2002) and by SCHUHWERK & LIPPERT (1999) from the Austrian Alps.

Hieracium amplexicaule L.

2n = 36

Locality

1. Italy, Trentino-Alto Adige, Gruppo dell' Adamello: Passo del Tonale, Mt. Monticello, E slope, near the road, 2 km SE of the col (monument), 2180 m, 29 August 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1073/1b, H1073/2, counted by JC).

Hieracium amplexicaule subsp. *amplexicaule*

2n = 27

Localities

1. Austria, Carinthia, Hohe Tauern, Goldberggruppe: Innerfragant, near the old (not marked) path to the Fraganter Hütte, ca. 1 km SW of the village, rocks above the brook, 1233 m, 28 July 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H 1050/3a, H1050/4, counted by JC).
2. Austria, Carinthia, Hohe Tauern, Ankogelgruppe: Stappitz near Mallnitz, Seebachtal valley, Zelenigleiten, 4 km NE of the village, wet rocks, 1360 m, 13°10'45" E, 47°01'12" N, 29 July 2005, leg. J. CHRTEK (H1055/2, counted by JC).
3. Spain, Catalunya, prov. Girona, Pirineos Mts.: Queralbs, along the road to Casa dels Plaus, near the brook of Torrent dels Plaus, 1480 m, 27 August 1996, leg. K. MARHOLD (H346, H347, counted by PM).
4. Spain, Catalunya, prov. Girona, Pirineos Mts.: Queralbs, along the tourist path from Daió de Baix to Refugi Manelic, near the brook of Freser, 1750–1950 m, 24 August 1996, leg. K. MARHOLD (H352, counted by PM; H354, counted by JZ).

Three chromosome numbers, i.e., 2n = 18, 2n = 27 and 2n = 36 have been reported in this collective species. Triploids (2n = 27) referred to subsp. *amplexicaule* were found in the Pyrenees (SCHUHWERK & LIPPERT 1998) and in the Sierra de Baza Mts. in southern Spain (CUETO ROMERO & BLANCA LÓPEZ 1986), triploid counts without an exact identification of subspecies were reported from the Alps (GADELLA & KLIPHUIS 1970), Morocco (cf. subsp. *olivicolor* JAHAND. et ZAHN; VOGT & OBERPRIELER 1994), Spain and Balearic Islands

(CASTRO et al. 2007). Chromosome number $2n = 27$ was also found in plants of subsp. *berardianum* (ARV.-TOUV.) ZAHN from the Austrian Alps (SCHUHWERK & LIPPERT 1999) and of subsp. *speluncarum* (ARV.-TOUV.) ZAHN from the Serra do Geres Mts. in Portugal (FERNANDES & QUIERÓS 1971). Tetraploids ($2n = 36$) of *H. amplexicaule* were reported by GENTCHEFF & GUSTAFSSON (1940) and QUÉZEL (1957). The same chromosome number has been found in plants referred to *H. pulmonarioides* VILL. from British Isles (MILLS & STACE 1974) and from botanical gardens (ROSENBERG 1927, GENTCHEFF 1937). Recently, CASTRO et al. (2007) revealed for the first time a diploid cytotype ($2n = 18$) in plants from Spain.

***Hieracium bocconeii* GRISEB.**

$2n \sim 4x$

Locality

1. Italy, Alto Adige, Deferegger Alpen: Passo Stalle (Staller Sattel), S slopes, 1954 m, $12^{\circ}11'46''$ E, $46^{\circ}53'24''$ N, 30 July 2005, leg. P. MRÁZ & J. CHRTEK (H1816, analyzed by PM, peak ratio 2.41).

To our best knowledge this is the first record on ploidy level for this species.

Hieracium bupleuroides* C.C. GMEL. subsp. *bupleuroides

$2n = 27, 2n \sim 3x$

Localities

1. Austria, Vorarlberg, Allgäuer Alpen: Baad, between Starzel Joch (1867 m) and Hochstarzel (1974 m), 20 July 2002, leg. P. MRÁZ (H1235, counted by PM).
2. Slovakia, distr. Ilava, Biele Karpaty Mts.: Vršatské Podhradie, castle ruin of Vršatec, 770 m, 15 June 2005, leg. J. CHRTEK (H1033/2, H1033/3, $2n = 27$, counted by JC).
3. Slovakia, distr. Tvrdošín, Chočské vrchy Mts.: Kvačianska dolina valley, upper part, 2 km SW of the church in the village of Huty, limestone rocks, 765 m, $19^{\circ}32'58''$ E, $49^{\circ}12'16''$ N, 17 August 2006, leg. J. CHRTEK & S. CHRŤKOVÁ (H1209/2, $2n = 27$, counted by JC).
4. Slovakia, distr. Poprad, Slovenský raj region: Stratená, calcareous rocks and small screes above the road near the upper end of the road tunnel, ca. 840 m, 9 July 2005, leg. P. MRÁZ (H1755, $2n \sim 3x$, analyzed by PM, peak ratio 2.0).
5. Slovakia, distr. Gelnica, Volovské vrchy Mts.: Kojšov, Turniská in the massif of Murovaná skala, 1 July 2005, leg. P. MRÁZ & V. MRÁZOVÁ (H1752, $2n = 27$, counted by PM).

***Hieracium bupleuroides* subsp. *leviceps* NÄGELI & A. PETER**

$2n = 27$

Locality

1. Austria, Oberösterreich, Dachstein massif: Vorderer Gosausee mountain lake, rocks on NW bank, 6 km SSW of the village of Gosau, 940 m, $13^{\circ}29'55''$ E, $47^{\circ}31'53''$ N, 13 August 2005, leg. J. CHRTEK, det. F. SCHUHWERK (H1063/2, counted by JC).

***Hieracium bupleuroides* subsp. *tatrae* (GRISEB.) NÄGELI & A. PETER**

$2n = 27, 2n \sim 3x$

Localities

1. Slovakia, distr. Poprad, Slovenský raj region: Vernár, S part of the village, limestone slopes above the road, 780 m, $20^{\circ}16'07''$ E, $48^{\circ}54'50''$ N, 5 August 2005, leg. J. CHRTEK & K. CHRŤKOVÁ (H1062/1, $2n = 27$, counted by JC).

2. Slovakia, distr. Poprad, Slovenský raj region: Stratená, calcareous rocks and small screes above the road near the upper end of the road tunnel, ca. 840 m, 9 July 2005, leg. P. MRÁZ (H1754, $2n \sim 3x$, analyzed by PM, peak ratio 1.95).

Triploids seem to prevail in this rather variable taxon. CHRTEK et al. (2004) reported $2n = 27$ for plants identified as subsp. *gmelinianum* (= subsp. *bupleuroides*) and subsp. *tatrae*. The same number was found in *H. bupleuroides* from the Slovenský kras region (southern Slovakia) by Murín and Uhríková (in MÁJOVSKÝ 1970). Further triploid counts come from the Bavarian Alps (SCHUHWERK & LIPPERT 1999), the Austrian Alps (POLATSCHEK 1966, SCHUHWERK & LIPPERT 1999 – plant referred to subsp. *bupleuroides*) and from northern Bavaria (SCHUHWERK & LIPPERT 1999). CHRISTOFF & POPOFF (1933) also published the same chromosome number, but the locality was not given. A tetraploid chromosome number was given for plants from Montenegro (NIKETIĆ et al. 2003, 2006; *H. bupleuroides* subsp. *pseudoschenkii* ROHLENA & ZAHN), Slovakia (CHRTEK et al. 2004), and southern Poland (SZELAĞ & VLADIMIROV 2005).

Hieracium caesioides* ARV.-TOUV. subsp. *caesioides

$2n = 27$

Localities

1. France, dépt. Alpes maritimes, valley of Roya: Tende, along the old road to the Col de Tende, ca. 0.5 km above the tunnel, 6 km NNW of the village, 1331 m, $07^{\circ}33'57''$ E, $44^{\circ}08'19''$ N, 28 August 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1067/4, H1067/5, H1067/6, H1067/10, counted by JC and JZ).
2. France, dépt. Alpes maritimes, valley of Roya: Tende, Mt. Cime de Salante, S slopes near the marked path, 8 km NW of the village, 2080 m, 28 August 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1068/2, counted by JC).

This is the first chromosome number record for *H. caesioides*.

***Hieracium caesium* agg.**

***Hieracium basifolium* (FR. ex ALMQ.) LÖNNR.**

$2n = 36$

(*H. caesium* subsp. *basifolium* sensu ZAHN)

Locality

1. Sweden, prov. Gästrikland, par. Hille: dry road/forest margin at Oslättfors, ca. 15 km NW of Gävle, July 2006, leg. et det. T. TYLER (H1227/2, counted by JC).

***Hieracium plumbeum* FR.**

$2n = 36$

(*H. caesium* subsp. *caesium* s. str. sensu ZAHN)

Locality

1. Sweden, prov. Gotland, par. Hall: open limestone scree by the sea 1.3 km SE of Hallshuk (close to the NW point of the island of Gotland ca. 40 km NNE of Visby), July 2006, leg. et det. T. TYLER & A. SENNIKOV (H1231/3, counted by JC).

The presented numbers are the first for the respective taxa. Chromosome number $2n = 36$ has been reported by SCHUHWERK & LIPPERT (1999) for subsp. *caesium* from Bavaria (Germany) and subsp. *carosum* (WIESB. ex DICHTL) ZAHN from Austria.

***Hieracium cerinthoides* L. s.str.**

$2n = 27$

(*H. cerinthoides* subsp. *cerinthoides*)

Locality

1. Spain, Catalunya, prov. Lérida: Os de Civís, 1 km WSW of the village, margin of a pasture, 1720 m, 21 July 2006, leg. J. CHRTEK, G. MATEO & J. A. ROSSELLÓ, det. G. MATEO (H1176/1, counted by JC).

DELAY (1969) found $2n = 18$ in *Hieracium cerinthoides*. However, taxonomic identity of the counted plants is not clear; they might belong to another taxon within the *H. cerinthoides* species group.

***Hieracium cordifolium* LAPEYR. s.str.**

$2n = 18$

Locality

1. Andorra, Pirineos Mts.: near Bixessarri (NW of Sant Julia de Loria), valley of Torrent dels Llimois, rocks and margins of a path ca. 100 m from the street, 1.5 km NW of the village, 1305 m, 21 July 2006, leg. J. CHRTEK, G. MATEO & J. A. ROSSELLÓ, det. G. MATEO (H1177/2, counted by JC).

CASTRO et al. (2007) determined diploid and triploid cytotypes in this species. Previously, SCHUHWERK & LIPPERT (1998) reported $2n = 18$ for *H. cordifolium* subsp. *neocerinthe* (FR.) ZAHN and $2n = 27$ for *H. c.* subsp. *eriocerinthe* (FR.) ZAHN.

***Hieracium eriophorum* ST.-AMANS**

$2n = 18$

Localities

1. France, dépt. Landes, Labenne: plage de Labenne Océan Sud, 27 September 2006, leg. E. FOREY (H1221, counted by JC).
2. France, dépt. Landes, Seignosse-le-Penon: plage de Estagnols Seignosse, 27 September 2006, leg. E. FOREY (H1222, counted by JC).
3. France, dépt. Landes, Vieux-Boucau-les-Bains: plage de Vieux-Boucau, 27 September 2006, leg. E. FOREY (H1223, counted by JC).

The same number was published by MERXMÜLLER (1975).

***Hieracium glaucum* ALL.**

$2n \sim 3x$

Locality

1. Austria, Carinthia, the Karawanken Mts.: Bad Eisenkappel, limestone rocks and pine forest (alliance *Erico-Pinion*) near the road to Bad Vellach, 4.5 km SSW of the town, 658 m, $14^{\circ}34'20''$ E, $43^{\circ}27'07''$ N, 26 July 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1757, analyzed by PM, peak ratio 1.96).

Hieracium glaucum* subsp. *nipholepium* NÄGELI & A. PETER*2n = 27****Localities**

1. Slovenia, Primorska region, Julijske Alpe Mts.: Trenta valley, ca. 1 km W of the village of Podklanec, near the road Vršič – Bovec, 425 m, 9 November 2005, leg. B. VREŠ & J. CHRTEK (H1081/2, counted by JC).
2. Slovenia, Primorska region, Julijske Alpe Mts.: near the road from the col of Vršič to the Trenta valley, 1020 m, 9 November 2005, leg. B. VREŠ & J. CHRTEK (H1083/3, counted by JC).
3. Slovenia, Primorska region, Julijske Alpe Mts.: Zadnjica valley, along the marked path to the Luknja col, 4 km E of the village of Trenta, ca. 1100 m, 8 August 2005, leg. V. ZAVADIL (H1232/2, counted by JZ).

The same chromosome number, corresponding to the triploid level, has been recorded in plants of *H. glaucum* from Styria (Austria) (POLATSCHEK 1966), Italy (SCANNERINI 1971) and Germany (SCHUHWERK & LIPPERT 1999, plant corresponding to subsp. *isaricum* (NÄGELI ex J. HOFM.) NÄGELI & A. PETER).

Hieracium gouanii* ARV.-TOUV.*2n = 18****(*H. cordifolium* subsp. *gouani* (ARV.-TOUV.) ZAHN)****Locality**

1. Spain, Catalunya, prov. Gerona: rocks at the road between Ripoll and Ribes de Freser, 24 July 2006, leg. J. CHRTEK (H1171/2, H1171/5, H1171/6, counted by JC).

The first karyological record for the species, treated by most authors at the subspecific level as *H. cordifolium* subsp. *gouanii* (ARV.-TOUV.) ZAHN. It clearly differs from *H. cordifolium* s.str. from the Central Pyrenees mainly by the taller stem and longer glabrescent leaves (MATEO 2005). It is confined to Catalunya and eastern part of the Pyrenees Mts. (NE Spain, S France).

Hieracium gymnocerinthe* ARV.-TOUV. & GAUT.*2n = 27****Locality**

1. Spain, Catalunya, prov. Lérida, distr. La Seu d'Urgell: Adraén, Serra del Cadí mountain ridge, NW slopes, 1 km SE of the village, 1600 m, road margin in a pine forest with dominating *Arctostaphylos uva-ursi*, 1°30'34" E, 42°16'15" N, 23 July 2006, leg. J. CHRTEK, G. MATEO & J. A. ROSSELLÓ, det. G. MATEO (H1172/4, counted by JC).

It differs from morphologically similar *H. ramondii* mainly in the indumentum of the phyllaries (numerous simple eglandular hairs in *H. ramondii* and numerous glandular hairs in *H. gymnocerinthe*); leaves are glabrous. It has been often treated as a subspecies of *H. cerinthoides*, which possesses (regarding the indumentum of the phyllaries) an intermediate position between *H. ramondii* and *H. gymnocerinthe*.

Hieracium humile* JACQ.*2n = 36****Locality**

1. Austria, Oberösterreich, Dachstein massif: Vorderer Gosausee mountain lake, rocks on NW bank, 6 km SSW of the village of Gosau, 940 m, 13°29'55" E, 47°31'53" N, 13 August 2005, leg. J. CHRTEK (H1064/2, H1064/3, counted by JC and JZ).

This is the first tetraploid (2n = 36) chromosome number ascertained for this species. SCHUHWERK & LIPPERT (1999) reported 2n = 27 for *H. humile* subsp. *pseudocottetii* (ZAHN) ZAHN from the Bavarian Alps (Karwendelgebirge).

Hieracium intybaceum* ALL.*2n = 18****Locality**

1. Italy, Trentino-Alto Adige, Gruppo dell' Adamello: Passo del Tonale, valley of the Presena rivulet, glacial cirque above the Lago Presena mountain lake, 3 km SSE of the col (monument), 2270 m, 10°35'49" E, 46°13'42" N, 29 August 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1069/1, counted by JC).

Three ploidy levels, namely diploid, triploid and tetraploid have been reported in this species. The first published count (2n = 27) comes from a plant cultivated by C.H. Ostenfeld in the Botanical Garden in Copenhagen (ROSENBERG 1927). Later LARSEN (1954) reported the same chromosome number in plants from the Swiss Alps (Schynige Platte, Oberland Bernois). Nevertheless, the most common ploidy level seems to be the diploid one, although it remained unrevealed until the 1990s (DOBEŠ et al. 1997, FAVARGER 1997). Only two tetraploid populations have been published until now, namely from the Alpes valaisannes (FAVARGER 1997).

Hieracium kittaniae* VLADIMIR.*2n = 18****Locality**

1. Bulgaria, Central Rhodope Mts.: Trigrad gorge, limestone rocks near the natural entrance to Dyavolskoto garlo cave, September 2005, leg. P. IGNATOVA (H1228/2, counted by JC).

Hieracium kittanae is a distinct relict species restricted to crevices of limestone rock in the Central Rhodope Mts. in southern Bulgaria. Our counts coincide with previously published data (VLADIMIROV 2003).

Hieracium lachenalii* SUTER*2n = 27****Localities**

1. Czech Republic, Bohemia, distr. Rakovník: forest between the villages of Roztoky and Křivoklát, 350 m, 29 May 2006, leg. J. ZAHRADNÍČEK (H1150/4, counted by JC).
2. Czech Republic, Bohemia, distr. Praha-východ: Tehov, forest margin 1.8 km NE of the village, 430 m, 14°42'36" E, 49°59'01" N, 25 July 2002, leg. J. CHRTEK & H. CHAPMAN (H831/1, counted by JC).
3. Czech Republic, Moravia, distr. Znojmo: Lukov, forest 1.3 km SSW of the village, 410 m, 15°54'27" E, 48°51'04" N, June 2006, leg. J. ZAHRADNÍČEK (H1160/4, counted by JC).

Hieracium lachenalii represents a taxonomically very difficult entity. Our counts well match most of the previously published data ($2n = 27$; cf. CHRTEK et al. 2004). LAVRENKO & SERDITOV (1987) reported the tetraploid level ($2n = 36$) and ROSTOVTSEVA (1983; ut *H. tilingii* JUXIP) the hypertriploid one ($2n = 28$).

Hieracium laevigatum* WILLD. subspecies group *laevigatum

$2n = 27$

Localities

1. Czech Republic, Bohemia, distr. Rokycany: Strašice, N part of the village, margin of a forest, 550 m, 13°45'07" E, 49°44'51" N, 29 June 2005, leg. J. CHRTEK (H1031/5, H1031/11, counted by JC).
2. Czech Republic, Bohemia, distr. Hradec Králové: Hradec Králové, forest 1.2 km SE of the church in Nový Hradec Králové, 270 m, 15°52'16" E, 50°10'17" N, 1 July 2006, leg. J. CHRTEK & K. CHRTEKOVÁ (H 1165/1, counted by JC).

Triploids ($2n = 27$) seem to be most frequent in this collective species. In addition, diploid counts ($2n = 18$) were published (e.g. SCHUHWERK 1996 and other standard reference manuals, e.g. Missouri Botanical Garden (2007)).

***Hieracium murorum* L.**

$2n = 27$

Localities

1. Czech Republic, Bohemia, distr. Plzeň: Plzeň, village of Koterov, the street "V závrtku", 0.6 km SSW of the railway station "Plzeň-Koterov", slopes along the street, ca. 320 m, 13°25'07" E, 49°43'02" N, 12 August 2003, leg. M. KRÁL (H875/4, H875/6, H875/8, H875/16, counted by JC and JZ).
2. Czech Republic, Bohemia, distr. Beroun: Svatý Jan pod Skalou, oak-hornbeam forest 0.8 ENE of the village, 350 m, 14°08'30" E, 49°58'15" N, 28 May 2005, leg. J. CHRTEK (H1030/1, H1030/2, counted by JC).
3. Czech Republic, NW Bohemia, Doupovské hory Mts.: Stružná, 2 km N of the village, along the road, 650 m, 13°02' E, 50°18' N, 1 June 2006, leg. J. ZAHRADNÍČEK (H1152/2, counted by JC).
4. Czech Republic, Bohemia, distr. Domažlice: Kdyně, forest margin near a parking place 2.4 km NE of the town, 640 m, 13°04'08" E, 49°24'35" N, 12 June 2006; leg. J. CHRTEK (H1156/3, counted by JC).

The chromosome number of $2n = 27$ is the most common one among the karyological data on *H. murorum*. Tetraploids ($2n = 36$) seem to be rare (e.g. SCHUHWERK 1996 and other standard reference manuals).

Hieracium naegelianum* PANČIĆ subsp. *naegelianum

$2n = 27$

Locality

1. Montenegro, Durmitor Mts.: Mt. Veliki Međed, alpine grassland on limestone, 2050 m, 19°04'13" E, 43°03'31" N, 1 August 2006, leg. and det. Z. SZELĄG (H1208/1, H1208/3, counted by JC).

This chromosome number confirms the previous counts from the Durmitor Mts. (NIKETIĆ et al. 2003, 2006) and from other Balkan localities (MERXMÜLLER 1975, GRAU & ERBEN 1988, VLADIMIROV & SZELĄG 2001).

***Hieracium nigrescens* agg.**

***Hieracium decipientiforme* (WOL. & ZAHN) SCHLJAKOV**

2n = 36

Locality

1. Ukraine, Oblast' Zakarpatska, Marmaros'ki Al'py Mts.: Dilove, at the foot of Mt. Berlebashka, SE exposition, ca. 1600 m, 30 July 1996, leg. P. MRÁZ (H81, counted by PM).

CHRTEK (1997a) reported the same chromosome number for this morphologically very distinct species.

Hieracium olympicum* BOISS. subsp. *olypticum

2n = 27

Locality

1. Bulgaria, Stara Planina Mts., Kaloferska Planina Mts.: Valley of Vidima River, 2 km NE of the Kaloferski Monastyr, eroded slope in the *Carpinus orientalis* forest, 870 m, 24°58'42" E, 42°40'36" N, 9 August 2006, leg. and det. Z. SZELĄG (H1206/3, counted by JC).

VLADIMIROV & SZELĄG (2001) reported a triploid chromosome number for this species.

Hieracium pannosum* BOISS. subsp. *pannosum

2n = 27

Locality

1. Bulgaria, Stara Planina Mts., Trojanska Planina plateau: Mt. Kozja stena, grassy slope on limestone, 1570 m, 24°34'06" E, 42°47'27" N, 8 August 2006, leg. and det. Z. SZELĄG (H1205/1, counted by JZ).

This is the first triploid chromosome count from Bulgaria. Earlier, the tetraploid count for *H. pannosum* was reported from Greece (PAPANICOLAOU 1984) and Bulgaria (VLADIMIROV & SZELĄG 2001). The triploid chromosome number was reported from Greece (STRID & FRANZÉN 1981, PAPANICOLAOU 1984, SCHUHWERK & LIPPERT 1998).

***Hieracium petrovae* VLADIMIR. & SZELĄG**

2n = 18

Locality

1. Bulgaria, Central Rhodope Mts.: Trigrad gorge, crevices of limestone rock (locus classicus), 750–800 m, 24°21'50" E, 41°39'55" N, 15 October 2005, leg. V. VLADIMIROV (H1229, counted by JC).

Hieracium petrovae is the only known diploid representative of the *H. pannosum* agg. It is closely related to a number of presumably descendent taxa in the *H. pannosum*, *H. pilosissimum* and *H. heldreichii* collective species. It is a calciphilous chasmophyte confined to several localities in the Central Rhodope Mts. in southern Bulgaria (VLADIMIROV

& SZELĄG 2006). Our count confirms the previously published data (VLADIMIROV & SZELĄG 2006).

***Hieracium piliferum* HOPPE**

2n ~ 3x

Localities

1. Italy, Alpi leontine, Spluga: Passo dello Spluga (Splügenpass), 2120 m, 9°1'54" E, 46°30'21" N, 23 August 2005, leg. P. MRÁZ (H1845, H1846, analyzed by PM, peak ratio 1.93).
2. Austria, Kärnten, Hohe Tauern: Kobnitz, Reißbeck Hütte, S of the tunnel, 2225 m, 13°21'41"E, 46°55'59.8 "N, 29 July 2005, leg. P. MRÁZ (H1802, analyzed by PM, peak ratio 1.98).

Hieracium piliferum* subspecies group *piliferum

2n = 27, 2n ~ 3x

Localities

1. France, dépt. Hautes Alpes: SE of Col du Galibier, 2570 m, 6°24'09" E, 45°04'59.8" N, 4 July 2003, leg. P. MRÁZ (H1344, 2n = 27, counted by PM).
2. Switzerland, cant. Bern, Berner Alpen: Interlaken, ca. 1 km NE of Mt. Schillthorn, 2230 m, 7°52'35" E, 46°34'05" N, 19 July 2006, leg. P. MRÁZ (1 plant without no., 2n ~ 3x, analyzed by PM, peak ratio 1.93).

Hieracium piliferum* subspecies group *glanduliferum

2n ~ 3x, 4x

Localities

1. Switzerland, cant. Valais, Alpes valaisannes: Col du Grand Saint Bernard, ca. 2600 m, 25 August 2005, leg. J. KOŠŮT (H1856, 2n ~ 3x, analyzed by PM, peak ratio 1.99).
2. France, dépt. Puy de Dome, Massif Central Mts.: Mt. Puy Sancy, very steep slope below the top exposed to E, 1875 m, 27 June 2006, leg. P. MRÁZ (H06/23, 2n ~ 4x, analyzed by PM, peak ratio 2.69).

The triploid level seems to prevail in *Hieracium piliferum*. It was first published by SCHOLTE (1977) from Switzerland. Later on, SCHUHWERK & LIPPERT (1999) found tetraploid plants in the same country. Isolated Western Carpathian populations of *H. piliferum* were also revealed to be tetraploid (MRÁZ 2003a). Tetraploid plants from the Massif Central were collected in the early stage (rosette leaves) and determined as *H. piliferum* s.l. only. However, according to local specialist F. Billy, only *H. glanduliferum* subsp. *glanduliferum* occurs at the locality (BILLY 1977).

***Hieracium porrifolium* L.**

2n = 18, 2n ~ 2x

Localities

1. Italy, Trentino-Alto Adige: Villini dell' Alpe, calcareous rocks along the road to Pianizza di Sopra (direction to Bolzano), 2 km E of the village, 30 August 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1075/2, H1075/5, 2n = 18, counted by JC).
2. Austria, Carinthia, the Karawanken Mts.: Bad Eisenkappel, limestone rocks and pine forests (alliance *Erico-Pinion*) near the road to Bad Vellach, 4.5 km SSW of the town,

658 m, 14°34'20" E, 43°27'07" N, 26 July 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1052/6, H1052/9, 2n = 18, counted by JC; H1756, 2n ~ 2x, analyzed by PM, peak ratio 1.39).

3. Slovenia, Primorska region, Julijske Alpe Mts.: Trenta valley, Trnovo ob Soči, near the road to Kobarid, 335 m, 9 November 2005, leg. B. VREŠ & J. CHRTEK (H1080/1, H1080/2, 2n = 18, counted by JC).

The species appears to be invariable in chromosome number. Diploids (2n = 18) have been reported by FAVARGER (1965) from the Julijske Alpe Mts. (Julian Alps), and by MARCUCCI & TORNADORE (1999) from the Treviso region in NE Italy.

Hieracium prenanthoides* VILL. subspecies group *prenanthoides

2n = 27

Locality

1. Andorra, Canillo, SE margin of the village, 1530 m, 22 July 2006, leg. J. CHRTEK, G. MATEO & J. A. ROSSELLÓ (H 1187/2, counted by JC).

This is only the second reference on ploidy level in *H. prenanthoides* from the Pyrenees and it confirms the previous count stated on plants originating from the same region (cf. CASTRO et al. 2007). Three ploidy levels, namely diploids (2n = 18), triploids (2n = 27), and tetraploids (2n = 36) have been reported in this collective species. However, triploids strongly prevail among the examined plants (cf. CHRTEK 1996, SCHUHWERK 1996, and other chromosome number indexes). Diploids were only reported from the French Alps (Hautes Alpes; FAVARGER 1969a, FAVARGER 1969b); tetraploids were found by CHRISTOFF & POPOFF (1933, cultivated plant of unknown origin) and by LÖVE (1970) in plants from Iceland.

***Hieracium ramondii* GRISEB.**

2n = 27

Locality

1. Andorra, Pirineos Mts.: Encamp, valley of Riu de les Deveses, NW slopes of Mt. Alt del Griu, 3.8 km E of the town, rocky outcrops in a light mountain forest, 2040 m alt., 1°37'52" E, 42°32'07" N, 22 July 2006, leg. J. CHRTEK, G. MATEO & J. A. ROSSELLÓ, det. G. MATEO (H 1173/4, H 1173/5, counted by JC).

This is the first chromosome number record for the species.

***Hieracium rohacsense* agg.**

***Hieracium rauzense* MURR**

2n ~ 3x

Locality

1. Austria, Osttirol, distr. Lienz: Staller col, E of the Obersee glacial lake, 7.5 km WSW of Mariahilf, along the road, 2043 m, 12°12'33" E, 46°53'23" N, 29 July 2005, leg. P. MRÁZ & J. CHRTEK (H1759, H1760, H1761, analyzed by PM, peak ratio 1.83–1.89).

The same ploidy level based on chromosome counts was found by MRÁZ (2001) in plants originating from Vorarlberg (the Austrian Alps). Due to some level of morphological convergence, *H. rauzense* is traditionally treated within the *H. rohacsense* group, or even it is

given as a synonym of *H. rohacsense* s.str. However, the taxa are rather different with respect to their morphology, ploidy level, distribution range and allozyme pattern (MRÁZ & MARHOLD 1999, MRÁZ 2001, MRÁZ et al., unpubl.). Both taxa likely have different origins.

***Hieracium recoderi* DE RETZ**

2n = 18

Locality

1. Spain, Catalunya, prov. Barcelona: Berga, monastery of Queralt, rocks ca. 200 m below the parking place, 24 July 2006, leg. J. CHRTEK (H1174/4, counted by JC).

This is the first karyological record for this species. The accession comes from the locus classicus (DE RETZ 1978). The species is only known from several localities in north-central Catalunya.

***Hieracium schmidtii* TAUSCH**

2n = 27

Localities

1. Czech Republic, Bohemia, distr. Litoměřice: Boreč, the Boreč hill, NW slope, 800 m NW of the village, 350 m, 13°59'15" E, 50°30'54" N, 15 May 2005, leg. J. CHRTEK (H1024/6, H1024/7, counted by JC).
2. Czech Republic, Bohemia, distr. Litoměřice: Boreč, the Boreč hill, E slope, 500 m N of the village, 370 m, 13°59'25" E, 50°30'53" N, 15 May 2005, leg. J. CHRTEK (H1025/3, H1025/5, counted by JC).

Our chromosome counts well match those published by CHRTEK (1996) from the Krkonoše Mts. (Czech Republic), by CASTRO et al. (2007) from Spain and by SCHUHWERK & LIPPERT (1999) for *H. schmidtii* subsp. *comatulum* (BOREAU) GOTTSCHL. and *H. schmidtii* subsp. *kalmutinum* (ZAHN) GOTTSCHL. from Bavaria. Chromosome number 2n = 36 was reported for plants referred to as *H. schmidtii* agg. from Central Bohemia, Czech Republic (KIRSCHNER & ŠTĚPÁNEK in MĚSÍČEK & JAROLÍMOVÁ 1992) and for plants of *H. schmidtii* from Spain (CASTRO et al. 2007).

***Hieracium stelligerum* FROEL.**

2n = 18

Locality

1. France, dépt. Ardeche, Vallon Pont d'Arc: crevices of the calcareous rocks along the road D 390, just on the opposite side of the "le Pont d'Arc", ca. 3.5 km SE of the village, October 2006, leg. P. MRÁZ (H06/38, 39, counted by PM).

This is the first chromosome number record for *H. stelligerum*.

***Hieracium tomentosum* L.**

2n ~ 3x

Locality

1. France, dépt. Hautes Alpes: Briançon, 1300 m, 2005, leg. R. DOUZET (plant without no., 2n ~ 3x, analyzed by PM, peak ratio 1.98).

Hieracium tomentosum* subsp. *tomentosum**2n = 18, 2n ~ 2x****Locality**

1. France, dépt. Alpes maritimes, valley of Roya: Tende, along the old road to the Col de Tende, ca. 0.5 km above the tunnel, 6 km NNW of the village, 1331 m, 7°33'57" E, 44°08'19" N, 28 August 2005, leg. J. CHRTEK & P. MRÁZ (H1066/1, H1066/2, H1066/6, H1066/8, 2n = 18, counted by JC and JZ; H1852, 2n = 18, counted by PM; H1851, H1852, H1853, 2n ~ 2x, analyzed by PM, peak ratio 1.33–1.37).

Surprisingly, these are the first chromosome counts in *H. tomentosum*. While in the Alpes Maritimes we found a diploid cytotype, one plant from a northerly situated population from Briançon was triploid.

Hieracium tommasinianum* MALY*2n = 27****(*H. tommasinii* RCHB. f., nom. illeg.)****Locality**

1. Serbia, SW part, distr. Zlatibor: Mileševka river gorge, 10 km SW of Prijepolje, 19°44'53" E, 43°21'31" N, 30 April 2006, leg. M. NIKETIĆ (H1224, counted by J.Z.)

SCHUHWERK & LIPPERT (1998) found 2n = 36 in plants from Montenegro.

Hieracium transylvanicum* HEUFF.*2n = 18****Locality**

1. Ukraine, Oblast' Zakarpatska, Marmaros'ki Al'py Mts.: Mt. Berlebashka (1480 m), NW slope along the trail (red marked), E of the village of Dilove, 19 September 2005, leg. J. ZAHRADNÍČEK (H1077/2, H1077/10, counted by JC and JZ).

The species appears to be invariable in chromosome number; only diploids have been reported so far. The published counts come from the Ukrainian Eastern Carpathians (PASHUK 1987, CHRTEK 1996, MRÁZ et al. 2005), Romanian Eastern Carpathians (MRÁZ 2003b, MRÁZ & SZELĄG 2004, MRÁZ et al. 2005), Durmitor Mts. in Montenegro (SZELĄG et al. 2007) and from the Stara Planina Mts. in Bulgaria (VLADIMIROV 2000, YURUKOVA-GRANCHAROVA et al. 2006). The first chromosome number in this species was reported by ROSENBERG (1927) but without indication of the exact locality (garden plant).

Hieracium umbellatum* L.*2n = 18****Localities**

1. Czech Republic, Bohemia, Praha: Praha-Troja, "Pustá vinice", heathland along a path, 240 m, 14°24'14" E, 50°07'18" N; 28 June 2006, leg. J. CHRTEK (H1162/3, H1162/4, counted by JC).
2. Ukraine, Oblast' Zakarpatska, Skhidni Beskidi Mts.: Scherbovets, southern slopes of Mt. Pikui, 1300–1400 m, 22°59'45" E, 48°49'52" N, 21 July 2003, leg. P. MRÁZ & J. CHRTEK (H1420, H1422, H1427, H1430, counted by PM).

Table 1. Summary of the analyzed taxa and their chromosome numbers/DNA ploidy levels. DNA ploidy level estimations are given by the following formula “~”. First record(s) for a taxon is/are marked in bold.

Taxon	Chromosome number/DNA ploidy level
<i>H. alpinum</i> agg.	
<i>H. halleri</i>	~ 3x
<i>H. amplexicaule</i>	36
<i>H. amplexicaule</i> subsp. <i>amplexicaule</i>	27
<i>H. bocconeii</i>	~ 4x
<i>H. bupleuroides</i> subsp. <i>bupleuroides</i>	27, ~ 3x
<i>H. bupleuroides</i> subsp. <i>leviceps</i>	27
<i>H. bupleuroides</i> subsp. <i>tatrae</i>	27, ~ 3x
<i>H. caesioides</i> subsp. <i>caesioides</i>	27
<i>H. caesium</i> agg.	
<i>H. basifolium</i>	36
<i>H. plumbeum</i>	36
<i>H. cerinthoides</i> s.str.	27
<i>H. cordifolium</i> s.str.	18
<i>H. eriophorum</i>	18
<i>H. glaucum</i>	~ 3x
<i>H. glaucum</i> subsp. <i>nipholepium</i>	27
<i>H. gouanii</i>	18
<i>H. gymnocerinthae</i>	27
<i>H. humile</i>	36
<i>H. intybaceum</i>	18
<i>H. kittaniae</i>	18
<i>H. lachenalii</i>	27
<i>H. laevigatum</i> subspecies group <i>laevigatum</i>	27
<i>H. murorum</i>	27
<i>H. naegelianum</i> subsp. <i>naegelianum</i>	27
<i>H. nigrescens</i> agg.	
<i>H. decipiensiforme</i>	36
<i>H. olympicum</i> subsp. <i>olympicum</i>	27
<i>H. pannosum</i> subsp. <i>pannosum</i>	27
<i>H. petrovae</i>	18
<i>H. piliferum</i>	~ 3x
<i>H. piliferum</i> subspecies group <i>piliferum</i>	27, ~ 3x
<i>H. piliferum</i> subspecies group <i>glanduliferum</i>	~ 3x, 4x
<i>H. porrifolium</i>	18
<i>H. prenanthoides</i>	27
<i>H. ramondii</i>	27
<i>H. rohacsense</i> agg.	
<i>H. rauzense</i>	~ 3x
<i>H. recoderi</i>	18
<i>H. schmidtii</i>	27
<i>H. stelligerum</i>	18
<i>H. tomentosum</i>	~ 3x
<i>H. tomentosum</i> subsp. <i>tomentosum</i>	18, ~ 2x
<i>H. tommasinianum</i>	27
<i>H. transylvanicum</i>	18
<i>H. umbellatum</i>	18
<i>H. waldsteinii</i> agg.	
<i>H. plumulosum</i>	18

Both sexual diploids ($2n = 18$) and apomictic triploids ($2n = 27$) are known in this species (for references see e.g. MÁJOVSKÝ et al. 1987, SCHUHWERK 1996, and other standard chromosome number indexes).

***Hieracium waldsteinii* agg.**

***Hieracium plumulosum* A. KERN.**

$2n = 18$

Locality

1. Montenegro, Canyon of the Mrtvica river, 35 km SW of Kolasin, halfway through the canyon, around the bridge, 1000 m, $19^{\circ}48'59''$ E, $42^{\circ}28'40''$ N, August 2006, leg. J. ZAHRADNÍČEK, det. Z. SZELĄG (H1218/1, H1218/2, counted by JC).

Three chromosome numbers have been published for *H. waldsteinii* s.l. by SCHUHWERK & LIPPERT (1998). They reported $2n = 18$ for plants referred to *H. w.* subsp. *suborieni* ZAHN from Montenegro, $2n = 27$ for those identified as subsp. *plumulosum* (A. KERN.) ZAHN from Serbia and Bosnia and Herzegovina and $2n = 36$ for plants of subsp. *baldaccianum* (FREYN) ZAHN from Montenegro. The first diploid ($2n = 18$) count in *H. plumulosum* was reported by SZELĄG et al. (2007) from the Sinjajerina Mts. in Montenegro.

Acknowledgements: We are much obliged to R. Douzet, E. Forey, P. Ignatova, M. Král, K. Marhold, M. Niketić, A.N. Sennikov, T. Tyler, V. Vladimirov and V. Zavadil for providing us with plant material of several species. We also thank J. Košúth, J.A. Rosselló and B. Vreš for their generous help with the field sampling and F. Schuhwerk for determination of some plants. The work was supported by the Czech Science Foundation (GAČR, grant no. 206/05/0657, to JC), Academy of Sciences of the Czech Republic (AVOZ60050516), and by the Slovak Research and Development Agency, Bratislava, Slovakia (grant no. APVT-51-026404 to PM).

REFERENCES

- BERGMAN B. (1941): Studies on the embryo sac mother cell and its development in *Hieracium* subg. *Archieracium*. *Svensk Bot. Tidskr.* 35(1): 1–41.
- BILLY F. (1977): Étude sur la distribution du genre *Hieracium* dans le département du Puy-de-Dome. *Rev. Sci. Nat. Auvergne* 43: 27–46.
- CASTRO M., MATEO G. & ROSSELLÓ J.A. (2007): Chromosome numbers in *Hieracium* and *Pilosella* species (*Asteraceae*) from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. *Bot. J. Linn. Soc.* 153: 311–320.
- CHRISTOFF M. & POPOFF A. (1933): Cytologische Studien über die Gattung *Hieracium*. *Planta* 20: 440–447.
- CHRTEK J. jun. (1996): Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* (*Compositae*) in the Sudeten Mts. and the Western and Ukrainian Eastern Carpathians. *Fragm. Florist. Geobot.* 41: 783–790.
- CHRTEK J. jun. (1997a): *Hieracium decipiensiforme* (the *H. nigrescens* group) – an interesting species of the Ukrainian Carpathians. *Preslia* 69: 121–128.
- CHRTEK J. jun. (1997b): Taxonomy of the *Hieracium alpinum* group in the Sudeten Mts., the West and the Ukrainian East Carpathians. *Folia Geobot. Phytotax.* 32: 69–97.
- CHRTEK J. jun., MRÁZ P. & SEVERA M. (2004): Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* s.str. (*Hieracium* subgen. *Hieracium*) in the Western Carpathians. *Preslia* 76: 119–139.
- CUETO ROMERO G. & BLANCA LÓPEZ M. (1986): Números cromosómicos de plantas occidentales. *Anales Jard. Bot. Madrid* 43: 403–409.
- DELAY J. (1969): Endemiques Pyrenéennes (Composées). *Cat. Inform. Annuelles Caryosyst. Cytogén.* 3: 24.

- DE RETZ B. (1978): Contributions à la connaissance de la flore hiéraciologique de la France et de l'Espagne, 5. Taxons nouveaux pour le genre *Hieracium* dans les Pyrénées françaises et en Espagne. *Bull. Soc. Bot. France* 125: 209–218.
- DOBEŠ CH., HAHN B. & MORAWETZ W. (1997): Chromosomenzahlen zur Gefäßpflanzen-Flora Österreichs. *Linzer Biol. Beitr.* 29: 5–43.
- DOLEŽEL J. & GÖHDE W. (1995): Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. *Cytometry* 19: 103–106.
- DYER A.F. (1963): The use of lacto-propionic orcein in rapid squash methods for chromosome preparations. *Stain Technol.* 38: 85–90.
- FAVARGER C. (1965): Notes de caryologie Alpine IV. *Bull. Soc. Neuchâteloise Sci. Nat.* 88: 5–60.
- FAVARGER C. (1969a): Notes de caryologie Alpine V. *Bull. Soc. Neuchâteloise Sci. Nat.* 92: 13–30.
- FAVARGER C. (1969b): [Report on *Hieracium prenanthoides*]. In: LÖVE Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports XXII, *Taxon* 18: 435.
- FAVARGER C. (1997): Notes de caryologie Alpine VI. *Bull. Soc. Neuchâteloise Sci. Nat.* 120: 19–33.
- FERNANDES A. & QUIERÓS M. (1971): Contribution à la connaissance cytotaxonomique des Spermatophyta du Portugal. II *Compositae*. *Bol. Soc. Brot.* 45, ser. 2: 5–122.
- GADELLA T. W. J. & KLIPHUIS E. (1970): Cytotaxonomic investigations in some angiosperms collected in the Valley of Aosta in the National Park "Gran Paradiso". *Caryologia* 23: 363–379.
- GENTCHEFF G. (1937): Zytologische und embryologische Studien über einige *Hieracium*-Arten. *Planta* 27: 165–195.
- GENTCHEFF G. & GUSTAFSSON A. (1940): The balance system of meiosis in *Hieracium*. *Hereditas* 26: 209–249.
- GRAU J. & ERBEN M. 1988. Chromosomenzahlen griechischer Hieracien. *Mitt. Bot. Staatssamml. München* 27: 97–98.
- LARSEN K. (1954): Chromosome numbers of some European flowering plants. *Bot. Tidsskr.* 50: 163–174.
- LAVRENKO A.N. & SERDITOV N.P. (1987): Chisla khromosom nekotorykh predstavitelei flory Urala (Komi ASSR) (Chromosome numbers of selected species of the Ural Mts. (Komi Republic)). *Bot. Zhurn.* 72: 846–847.
- LÖVE Á. (1970): *Íslenzk ferðaflóra (Flora of Iceland)*. Almenna Bókafélagid, Reykjavík.
- MÁJOVSKÝ J. (ed.) (1970): Index of chromosome numbers of Slovakian flora (Part 1). *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comen., Bot.* 16: 1–26.
- MÁJOVSKÝ J., MURÍN A., FERÁKOVÁ V., HINDÁKOVÁ M., SCHWARZOVÁ T., UHRÍKOVÁ A., VÁCHOVÁ M. & ZÁBORSKÝ J. (1987): *Karyotaxonomický prehľad flóry Slovenska (Karyotaxonomic survey of the Slovak flora)*. Veda, Bratislava.
- MARCUCCI R. & TORNADORE N. (1999): Mediterranean chromosome number reports 9 (1089–1098). *Fl. Medit.* 9: 372–378.
- MATEO G. (2005): Aportaciones al conocimiento del género *Hieracium* en España, X. Novedades para el Pirineo catalán. *Fl. Montib.* 31: 62–69.
- MERXMÜLLER H. (1975): Diploide Hieracien. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* 32: 89–196.
- MĚSÍČEK J. & JAROLÍMOVÁ V. (1992): *List of chromosome numbers of the Czech vascular plants*. Academia, Praha.
- MILLS J.N. & STACE C.A. (1974): Chromosome numbers of British plants, 2. *Watsonia* 10: 167–168.
- MISSOURI BOTANICAL GARDEN (2007): *w3TROPICOS – Index to plant chromosome numbers data base*. Available on-line: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.html>
- MRÁZ P. (2001): Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* sect. *Alpina* (*Asteraceae*) from Central and Eastern Europe. *Folia Geobot.* 36: 321–332.
- MRÁZ P. (2003a): *Hieracium piliferum* group in the West Carpathians. *Biologia (Bratislava)* 58: 29–36.
- MRÁZ P. (2003b): Mentor effects in the genus *Hieracium* s. str. (*Compositae, Lactuceae*). *Folia Geobot.* 38: 345–350.
- MRÁZ P. & MARHOLD K. (1999): Lectotypification of the name *Hieracium rohacsense* KIT. (*Compositae*). *Willdenowia* 29: 41–44.
- MRÁZ P., CHRTEK J. jun., FEHRER J. & PLAČKOVÁ I. (2005): Rare recent natural hybridization in the genus *Hieracium* s.str. – evidence from morphology, allozymes and chloroplast DNA. *Pl. Syst. Evol.* 255: 177–192.

- MRÁZ P. & PAULE J. (2006): Experimental hybridization in the genus *Hieracium* s.str. (*Asteraceae*): crosses between selected diploid taxa. *Preslia* 78: 1–26.
- MRÁZ P. & SZELĄG Z. (2004): Chromosome numbers and reproductive systems in selected species of the genera *Hieracium* L. and *Pilosella* HILL (*Asteraceae*) from Romania. *Ann. Bot. Fenn.* 41: 405–414.
- MRÁZ P. & TOMČÍKOVÁ D. (2004): Experimental hybridization in the genus *Hieracium* s. str. – crosses between diploid *H. umbellatum* and triploid *H. sabaudum*. *Thaiszia – J. Bot.* 14, Suppl. 1: 15–16.
- MURÍN A. (1960): Substitution of cellophane for glass covers to facilitate preparation of permanent squashes and smears. *Stain Technol.* 35: 351–353.
- NIKETIĆ M., BAREKA P. & KAMARI G. (2003): Karyosystematic study of selected *Hieracium* taxa (*Compositae*) from Durmitor Mt (Montenegro). *Bot. Chron.* 16: 23–45.
- NIKETIĆ M., VLADIMIROV V. & MRÁZ P. (2006): Chromosome numbers and taxonomic-chorological notes on selected species of *Hieracium* s. str. (*Asteraceae*) from Montenegro. *Phytologia Balcan.* 12: 85–97.
- NOGLER G.A. (1984): Gametophytic apomixis. In: JOHRI B.M. (ed.), *Embryology of angiosperms*, Springer, Berlin, pp. 475–518.
- OTTO F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: CRISSMAN H.A. & DARZYŃKIEWICZ Z. (eds.), *Methods in cell biology* 33, Academic Press, New York, pp. 105–110.
- PAPANICOLAOU K. (1984): [Report on *Hieracium pannosum*]. In: LÖVE Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports LXXXII, *Taxon* 33: 130.
- PASHUK K. T. (1987): Khromozomnye chisla vidov subal'piyskogo poyasa Chernogory (Ukrainskie Karpaty) (Chromosome numbers of species of the subalpine belt of the Chornohora Mts. (Ukrainian Carpathians)). *Bot. Zhurn.* 72: 1069–1074.
- POLATSCHKEK A. (1966): Cytotaxonomische Beiträge zur Flora der Ostalpenländer. *Oesterr. Bot. Z.* 113: 1–46, 101–147.
- PULKINA S.V. & TUPITSYNA N.N. (2000): Poliploidnye komplekсы v rode *Hieracium* (*Asteraceae*) (Polyploid complexes in *Hieracium* (*Asteraceae*)). *Turczaninowia* 3: 79–81.
- QUÉZEL P. (1957): Peuplement végétal des hautes montagnes de l'Afrique du Nord. *Encycl. Biogéogr. Écol.* 10: 1–445.
- ROSENBERG O. (1927): Die semiheterotypische Teilung und ihre Bedeutung für die Entstehung verdoppelter Chromosomenzahlen. *Hereditas* 8: 305–338.
- ROSTOVTSEVA T. S. (1983): Chisla khromosom nekotorykh vidov semeystva *Asteraceae* II. (Chromosome numbers of selected species of the family *Asteraceae* II.). *Bot. Zhurn.* 68: 660–664.
- SCANNERINI S. (1971): Numeri cromosomici per la flora Italiana (Chromosome numbers of the Italian flora). *Inform. Bot. Ital.* 3: 66–67.
- SCHOLTE G. (1977): [Report on *Hieracium piliferum*]. In: LÖVE Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports LVI, *Taxon* 26: 258–259.
- SCHUHWERK F. (1996): *Published chromosome counts in Hieracium.* <http://www.botanik.biologie.uni-muenchen.de/botsamml/projects/chrzlit.html>.
- SCHUHWERK F. & LIPPERT W. (1998): Chromosomenzahlen von *Hieracium* (*Compositae*, *Lactuceae*) Teil 2. *Sendtnera* 5: 269–286.
- SCHUHWERK F. & LIPPERT W. (1999): Chromosomenzahlen von *Hieracium* (*Compositae*, *Lactuceae*) Teil 3. *Sendtnera* 6: 197–214.
- SKAWIŃSKA R. (1963): Apomixis in *Hieracium alpinum*. *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.*, 5(1962): 7–14.
- ŠTORCHOVÁ H., CHRTEK J. jun., BARTIŠ I. V., TETERA M., KIRSCHNER J. & ŠTĚPÁNEK J. (2002): Genetic variation in agamosperous taxa of *Hieracium* sect. *Alpina* (*Compositae*) in the Tatry Mts. (Slovakia). *Pl. Syst. Evol.* 235: 1–17.
- STRID A. & FRANZÉN R. (1981): [Report on *Hieracium pannosum*]. In: LÖVE Á. (ed.), IOPB Chromosome number reports LXXIII, *Taxon* 30: 842.
- SZELĄG Z., ILNICKI T., NIKETIĆ M. & TOMOVIĆ G. (2007): Diploid chromosome numbers in five *Hieracium* species from Serbia and Montenegro. *Acta Biol. Cracov., Ser. Bot.* 49: 119–121.
- SZELĄG Z. & VLADIMIROV V. (2005): Chromosome numbers of Polish *Hieracia* (*Asteraceae*). *Polish Bot. J.* 50: 139–143.
- TOMČÍKOVÁ D. (2006): *Experimentálna hybridizácia v rode Hieracium s.str.: kríženie medzi diploidným druhom H. umbellatum a triploidným druhom H. sabaudum (Experimental hybridization in the genus*

- Hieracium*: hybrids between diploid *H. umbellatum* and triploid *H. sabaudum*). MS, Diploma thesis, Faculty of Sciences, P.J. Šafárik University, Košice.
- VLADIMIROV V. (2000): Diploid species of the genus *Hieracium* s.l. in Bulgaria. *Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz* 72, Suppl.: 16.
- VLADIMIROV V. (2003): A new diploid *Hieracium* (*Asteraceae*: *Lactuceae*) from Bulgaria. *Bot. J. Linn. Soc.* 143: 213–218.
- VLADIMIROV V. & SZELĄG Z. (2001): Reports (1271–1277). In: KAMARI G., BLANCHÉ C. & GABARI F. (eds), Mediterranean chromosome numbers report 11, *Fl. Medit.* 11: 478–483.
- VLADIMIROV V. & SZELĄG Z. (2006): A new diploid species of *Hieracium* sect. *Pannosa* (*Asteraceae*) from Bulgaria. *Bot. J. Linn. Soc.* 150: 261–265.
- VOGT R. & OBERPRIELER Ch. (1994): Chromosome numbers of North African phanerogams. IV. *Candollea* 49: 549–570.
- YURUKOVA-GRANCHAROVA, ROBEVA-DAVIDOVA P. & VLADIMIROV V. (2006): On the embryology and mode of reproduction of selected diploid species of *Hieracium* s.l. (*Asteraceae*) from Bulgaria. *Flora* 201: 668–675.
- ZAHN K.H. (1921–1923): *Hieracium*. In: ENGLER A. (ed.), *Das Pflanzenreich* 75, 76, 77, 80, 82 (IV/280), Wilhelm Engelmann, Leipzig.

Received 26 April 2007, revision received 9 August 2007, accepted 27 August 2007

Strong phylogenetic component of genome size variation in *Hieracium* subgen. *Hieracium* (Compositae)

JINDŘICH CHRTEK Jr.^{1,*}, JAROSLAV ZAHRADNÍČEK², KAROL KRAK¹ and JUDITH FEHRER¹

¹*Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, CZ-252 43 Průhonice, Czech Republic,* ²*Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague, Benátská 2, CZ-128 01, Prague, Czech Republic*

Running head: Genome size in *Hieracium* subgen. *Hieracium*

*For correspondence: E-mail chrtek@ibot.cas.cz

Background and Aims *Hieracium* subgen. *Hieracium* is one of the taxonomically most intricate groups of vascular plants, mostly due to polyploidy and diversity of breeding systems (sexuality vs. apomixis). The aim of the present study was to analyse nuclear genome size in a phylogenetic framework and to assess relations between genome size and ploidal level, breeding system and selected ecogeographic features.

Methods Holoploid and monoploid genome sizes (C- and Cx-values) of 215 cultivated plants from 89 field populations of 42 so-called ‘basic’ *Hieracium* species were determined using propidium iodide flow cytometry. Chromosome counts of all analysed plants were available, and all plants were tested experimentally for their mode of reproduction (sexuality vs. apomixis).

Key results The mean 2C values differed up to 2,37-fold among different species (from 7.03 pg in diploid to 16.67 in tetraploid accessions). The 1Cx values varied 1,22-fold (between 3.51 and 4.34 pg). Variation in 1Cx values between conspecific (species in a broad sense) accessions ranged from 0.24% to 7.2%. Little variation (not exceeding 3.5%) was found in 33 species, variation higher than 3.5% was detected in seven species. Most of the latter may have polytopic origin. Mean 1Cx values of the three cytotypes (2n, 3n, 4n) differed significantly (average of 3.93 pg in diploids, 3.82 pg in triploids, and 3.78 pg in tetraploids) indicating downsizing of genomes in polyploids. The pattern of genome size variation correlated well with two major phylogenetic clades based on sequences of the external transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA (ETS), which were composed of species with western or eastern European origin. The monoploid genome size in the ‘western’ species was significantly lower than in the ‘eastern’ ones. Correlation of genome size with geographic latitude, altitude and selected ecological characters (light and temperature) was not significant while a longitudinal component was apparent, albeit weaker than the phylogenetic correlation.

Conclusions Phylogeny was the most important component explaining the pattern of genome size variation in *Hieracium* s.str., species of western European origin having significantly lower genome size in comparison with those of eastern European origin. Correlation with ecogeographic variables was superimposed by phylogenetic constraint.

Keywords: apomixis, Asteraceae, chromosome numbers, genome size, hawkweeds, *Hieracium* subgen. *Hieracium*, mode of reproduction, nuclear DNA content, phylogeny, polyploidy.

INTRODUCTION

Genome size became a widely studied phenomenon since the 1950s, when large differences in the nuclear content of different organisms were detected (e.g., Swift, 1950; Laurie and Bennett 1985; Bennett and Leitch, 1995). Large differences in DNA content can be caused by several mechanisms. It has been found that nuclear DNA content is primarily influenced by the proportion of repetitive DNA (Flavell *et al.*, 1977; Barakat *et al.*, 1997). Particularly, it has been found that retrotransposon copy number can vary among genomes (Arumuganathan and Earle, 1991; Vicient *et al.*, 1999; Kalendar *et al.*, 2000). Decrease in genome size can result from a higher overall rate of deletions than insertions, selection against transposable elements, unequal crossing over, and illegitimate recombination (Morgan, 2001; Petrov, 2002; Wendel *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2004; Bennetzen *et al.*, 2005).

Correlations between genome size and specific life traits, most importantly life history and breeding systems, have been documented. Selfers were found to have smaller Cx-values than related outcrossers (Labani and Elkington, 1987; Govindaraju and Cullis, 1991; Albach and Greilhuber, 2004). Annuals, and especially weedy species, tend to have lower genome size in comparison with related perennials (Bennett, 1972; Rejmanek and Richardson, 1996; Bennett *et al.*, 1998; Garnatje *et al.*, 2004; Grotkopp *et al.*, 2004), which is, however, most probably due to an association of annual life history with selfing (e.g., Albach and Greilhuber, 2004). Relationships between genome size and ecological factors are less clear. Correlations between genome size and frost resistance in the British flora (MacGillivray and Grime, 1995), elevation in some groups of *Centaurea* (Bancheva and Greilhuber, 2006), *Veronica* (Albach and Greilhuber, 2004), *Dactylis* (Reeves *et al.*, 1998), and *Berberis* (Bottini *et al.*, 2000), or with continentality and habitat conditions (moisture) in *Cirsium* (Bureš *et al.*, 2004) have been already documented.

Polyploids often have smaller Cx-values than their diploid relatives (e.g., Leitch and Bennett, 2004; Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2006). These decreases correlate with a mutational bias towards deletion over insertions (Petrov, 2002), and illegitimate recombination has been shown to eliminate retrotransposon sequences (Bennetzen, 2002; Devos *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2004). However, exceptions of this downsizing pattern have been found, e.g. in the genus *Orobanche* (tetraploid *O. transcaucasica*). It was hypothesized that such polyploids are relatively young and that there was not enough time for a substantial reduction in nuclear DNA content (Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2006).

Genome size alone is of little value as a phylogenetic indicator at higher taxonomic levels, but can be helpful in infrageneric classification assessments, species delimitation or hybrid identification (Keller *et al.*, 1996; Buitendijk *et al.*, 1997; Morgan *et al.*, 1998; Thalmann *et al.*, 2000; Zonneveld, 2000; Šiško *et al.*, 2003; Bureš *et al.*, 2004; Baack *et al.*, 2005; Závorský *et al.*, 2005; Suda *et al.*, 2007). An important issue that is still largely neglected in the literature, mostly due to a lack of comparative analyses between DNA sequence and genome size data sets, is the understanding on how genome size variation is linked with species evolution (but see Wendel *et al.*, 2002; Albach and Greilhuber, 2004; Grotkopp *et al.*, 2004; Jakob *et al.*, 2004; Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2006).

Hieracium subgen. *Hieracium* is distributed in temperate regions of Europe, Asia, northernmost Mediterranean Africa, and North America and was introduced to several other regions, e.g. to New Zealand. The genus is suitable for the study of genome size variation due to its remarkable diversity in ploidal levels (coupled with breeding systems), habitat preferences, and geographic distribution of particular species. Polyploid (triploid and tetraploid, very rarely pentaploid, $x = 9$) taxa with asexual reproduction through parthenogenetic development of the unreduced egg cell (*Antennaria*-type diplospory) prevail in this group, i.e., they are (near-)obligate apomicts (e.g., Johri, 1980). Sexual reproduction is rather rare and restricted to diploid species (Schuhwerk, 1996; Chrtek *et al.*, 2004). The species occupy forests, forest margins, various grasslands and rocks from lowlands to the alpine belt.

Species concepts in *Hieracium* are a matter of discussion for a long time (cf. e.g., Schuhwerk, 2003). The Central European school of hieraciology (founded by Nägeli and Peter in the 19th century) accepts a broad species definition (species are then divided into subspecies, varieties, etc.) while Scandinavian, British and Russian botanists follow a narrow species concept, i.e. nearly each morphologically recognizable type is treated at species rank ('microspecies'). We follow the Central European concept because in our opinion it reflects better the situation across the whole distribution area, especially in Central and southern Europe where most diploids occur from which the apomictic polyploids should be derived. According to this concept, ca 500 species (in the broad sense) are accepted (Zahn 1921–1923, and species described since that time), being either so-called 'basic' or 'intermediate' taxa. The latter share morphological characters of two or more basic species and are supposed to be of hybridogeneous origin (hybrids stabilized by agamospermy). Basic species (about 45, including diploids and polyploids) are tentatively considered as main units of species evolution in *Hieracium*.

Many classifications of *Hieracium* s.str. (*Hieracium* subgen. *Hieracium*) have been proposed in the past (for a review see Stace 1998). The classification by Stace (1998) comprises 38 sections, formerly recognized by Sell and West (1976) as ‘informal groups’. Our recent molecular phylogenetic studies (using a subset of the plants analyzed here) based on the nuclear ribosomal external transcribed spacer (ETS) (Fehrer *et al.*, in prep.) revealed a deep split that separated the taxa into two very well-supported clades, one mainly composed of species with western European origin, and the second comprising species of eastern European origin. Apart from clear phylogenetic signal, a large number of hybrids/hybridogeneous taxa were detected, unexpectedly also including diploid basic species.

Here, we report a nuclear DNA content analysis of 42 basic species of *Hieracium* subgen. *Hieracium* (in the sense of Zahn 1921–1923 with a few exceptions, see Material and Methods). The following questions were addressed: (i) How does the level of intraspecific variation in holoploid and monoploid genome sizes relate to the circumscription of species *sensu* Zahn, and does the pattern of interspecific variation allow higher-order classification? (ii) How does monoploid genome size (C_x) relate to ploidal level (diploids, triploids and tetraploids), i.e., is there evidence for downsizing of genomes in polyploids? (iii) Is there any congruence between the phylogenetic structure and the pattern of genome size variation? (iv) How does nuclear genome size relate to selected ecogeographic features (latitude, longitude, altitude, temperature, light)?

MATERIAL AND METHODS

Plant material

215 samples from 89 populations of 42 *Hieracium* species were collected in the field (or grown from seeds in a few cases) throughout Europe and transferred to the experimental garden of the Institute of Botany in Průhonice (Table 1, for details of sample localities see Supplementary material). Taxon sampling was restricted to so-called ‘basic’, supposedly non-hybridogeneous species, generally following Zahn (1921–1923) with a few exceptions: The species concept of section *Cerinthoidea* follows Mateo (2005), *H. plumulosum* (*H. waldsteinii* s.l.) is treated as a separate species, and two newly described Balkan species (*H. kittanae* and *H. petrovae*; Vladimirov, 2003; Vladimirov and Szélag, 2006) are included. Complete analysis covering all recognized and mostly (allo)polyploid hybridogeneous species (ca 500

'broad' species) was not feasible, and interpretation of estimated genome sizes would be an extremely complicated task due to often unknown origin of polyploids and reticulate patterns of variation.

For diploid, sexually reproducing species and for agamospermous polyploids with a rather small distribution area, 1–2 populations were chosen. For sexual diploids with large geographic areas and for more widely distributed agamospermous polyploids, 2–6 populations were selected. The number of analyzed plants per population varied from two in agamospermous species with likely clonal population structure (e.g., Shi *et al.*, 1996; Mráz *et al.*, 2001; Štorchová *et al.*, 2002) to eight in supposedly genetically variable populations of sexual diploids. Two species, *H. petrovae* and *H. plumulosum*, were represented by a single plant only due to their rarity in the field or because of cultivation problems. When two or more ploidal levels had been reported for a species, we tried to cover this diversity as far as possible. Voucher specimens of all samples are deposited in the herbarium PRA.

Chromosome numbers and breeding system

At least two plants per population were checked for their chromosome number using the method described in Chrtěk *et al.* (2007); counts for selected accessions have been published (Chrtěk *et al.*, 2007). Simultaneously, the mode of reproduction was tested, generally following Gadella (1987) and Krahulcová and Krahulec (1999). In diploids (where sexual reproduction was expected), randomly selected capitula were bagged in the bud stage and tested for late-acting autogamy (in absence of active pollination); results were compared with control capitula from the same plant in open pollination treatments. In polyploids (where agamospermy was supposed), the upper part of the capitulum was cut off in the bud stage (emasculatation) and the number of "full" achenes was counted as a measure for seed set and compared with the number of achenes from untreated capitula of the same plant. Data on the percentages of "full" achenes after emasculatation in particular plants/species are available upon request.

Genome size estimation

Genome size was determined by flow cytometry using a Partec CyFlow cytometer equipped with a green (532 nm) solid state laser. *Zea mays* L. 'CE – 777', $2C = 5.48$ pg (Lysák and Doležel, 1998) and *Pisum sativum* L. 'Ctirad', $2C = 8.85$ pg (Doležel *et al.*, 1994; Suda *et al.*, 2007) were used as internal standards for diploid and polyploid species. The modified two step-procedure described by Otto (1990) was employed for sample preparation. Intact leaf

tissues (approx. 1 cm²) of the analyzed species and an appropriate quantity of the internal standard were co-chopped with a sharp razor blade in a plastic Petri dish with 1 ml of ice-cold Otto I buffer (0.1 M Citric Acid, 0.5% Tween 20) as the nuclear isolating solution. The suspension was filtered through a 42 µm nylon filter and centrifuged at 15 g for 5 min. The supernatant was discarded and the pellet was resuspended in 100 µl fresh Otto I buffer. Samples were incubated for at least 10 min at room temperature and mixed with 1 ml Otto II buffer (0.4 M Na₂HPO₄×12H₂O) supplemented with propidium iodide (PI) as the fluorochrome, RNase IIA (both at a concentration of 50 µl ml⁻¹) and β-mercaptoetanol (2 µl ml⁻¹). Samples were stained for 5 min at room temperature before measurement. Usually, 5000 nuclei were analyzed for each sample. Nuclear genome size was calculated as a linear relation between the ratio of 2C peaks of sample and standard. Each plant was measured at least three times on different days by the same operator to eliminate potential artifacts. If the difference between the three measurements exceeded 2%, the value was discarded and the sample was re-analyzed. Coefficient of variation (CVs) of both peaks did not exceed 5% (with two exception in *Hieracium* samples).

Statistical analysis

Intraspecific variation in morphologically defined Zahn's species was assessed and species with variation exceeding 3.5% (following Suda *et al.*, 2007 in *Hieracium* subgen. *Pilosella*) were marked (*H. amplexicaule*, *H. bupleuroides*, *H. laevigatum*, *H. pannosum*, *H. pictum*, *H. piliferum* and *H. prenanthoides*). In two of them, namely in *H. bupleuroides* and *H. prenanthoides*, differences in ETS sequences among accessions have been found (Fehrer *et al.*, in prep.) which were caused by hybridization with other species. These heterogeneous species were therefore split into more natural units (accessions or groups of accessions) according to genome size and treated separately in the following analyses. The same held for *H. pannosum*, in which the accessions differed distinctly in genome size (and in ploidal level), and for *H. pilosum* and *H. villosum*, where differences in ETS sequences due to introgression were found between accessions (although genome size variation was rather low). On the other hand, morphologically homogeneous species with high intrapopulation variation in genome size (*H. pictum*) and species with unclear pattern of genome size variation (*H. amplexicaule*, *H. laevigatum*, and *H. piliferum*) were not split. The units after splitting held the name of the broad species and were numbered (I, II) (Table 1). For convenience, we keep on referring to them as species in the following paragraphs. A total of 47 taxa were recognized after the split (Table 1).

Statistical significance of differences between species in the above sense was investigated by one-way ANOVA (all samples were included); the Scheffé test was applied to examine which species were statistically not different in their 1Cx values. The same analysis was performed for diploid species only.

In a next step, we tested how the variation in genome size matched the two major *Hieracium* lineages (informally called ‘western’ and ‘eastern’) suggested by molecular phylogenetic analyses of the ETS region (Fehrer *et al.*, in prep.). Within these major groups, species relationships were poorly resolved and thus we refrained from using methods incorporating phylogenetic relationships (independent contrast or generalized least square method) for a correlation with genome size data. In addition, genome sizes of inter-clade hybrid accessions were analyzed. Five informal groups were recognized and used for these analyses, restricting the genome size dataset to the accessions for which sequence data were available (Table 1): (i) ‘western’, corresponding to the phylogenetically distinguished ‘western’ group and containing ‘pure’ accessions as well as hybrid/hybridogeneous accessions within the ‘western’ group (W and W(H)), (ii) ‘eastern’, corresponding to the phylogenetically distinguished ‘eastern’ group and containing ‘pure’ accessions and hybrid/hybridogeneous accessions within the ‘eastern’ group (E and E(H)), (iii) hybrid/hybridogeneous accessions between ‘western’ and ‘eastern’ clade species with about equal genome contribution from each parent (X), (iv) interclade hybrid accessions with dominating ‘western’ ETS sequence type (X(W)), and (v) interclade hybrid accessions with dominating ‘eastern’ group ETS (X(E)) (Table 1). Two comparisons were performed, (i) the ‘western’ and ‘eastern’ groups with a group comprising all E-W hybrids, and (ii) the ‘western’ and ‘eastern’ groups with the three different groups of hybrids (iii-v) specified above. Both comparisons were conducted separately with and without *H. transylvanicum* (which fell into the phylogenetically defined western lineage, but has a genome size and geographic range congruent with the ‘eastern’ group, see Discussion). The correlation between genome size and phylogenetic pattern (five groups, see above) was tested to assess the impact of phylogeny on the pattern of genome size variation.

The Spearman rank order correlation coefficient and the one-way ANOVA were used in testing the correlation between monoploid DNA amount (1Cx) and chromosome number (matrix of all samples, $2n = 18, 27$ and 36). Furthermore, the Spearman non-parametric rank order correlation coefficient was used in testing whether DNA amounts correlated with selected Ellenberg’s indicator values, namely for light and temperature (Ellenberg *et al.*, 1992). Mean 1Cx values for species in Zahn’s sense were used for this analysis, only a subset

of Central European species (for which these values are available) was chosen. Finally, genome size variation was tested against altitudinal and geographical position (longitude and latitude) for (i) the complete set of accessions (mean accessions 1Cx values were used), and (ii) the set of accessions with known ETS sequences. Two analyses were performed for both data sets including or excluding accessions of widely distributed species (*H. bifidum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. murorum*, *H. sabaudum* and *H. umbellatum*) for which the results are strongly affected by the collection site of the samples.

Data were analysed using the statistical package 'Statistica for Windows 6.0' (StatSoft 1984–2002).

RESULTS

Chromosome counts and mode of reproduction

Chromosome numbers for plants of 43 populations analysed in the present paper belonging to 28 species were published elsewhere (Chrték *et al.*, 2007), counts for the remaining 46 populations are presented here (Table 1). A new ploidal level is reported for *H. gymnocephalum* ($2n = 18$). Other counts confirmed previously published chromosome numbers. All studied diploids were found to be sexual and allogamous, while all polyploids (3x, 4x) were agamospermous (data not provided).

Flow cytometry

Flow cytometric analyses yielded high-resolution histograms (Fig. 1) with CVs of G_0/G_1 peaks for *Hieracium* samples ranging from 0.83 to 5.76% (mean 2.28%), the values for internal reference standards were 0.97 to 5.0% (mean 2.19%). Generally, CVs of *Pisum sativum* were lower compared those of *Zea mays*.

Nuclear DNA content: within-species variation

Intraspecific variation was assessed in 40 of 42 species in Zahn's sense. Variation within accessions (populations) was generally low (Table 1). Mean values with standard errors (ranges for 2C and means for 1Cx genome sizes) for each population and mean values with standard errors and ranges for 1Cx for each species are summarized in Table 1. Variation in 1Cx values between conspecific accessions (in both homo- and multiploid species) ranged from 0.24% in *H. gymnocephalum* and *H. heterogynum* to 7.2% in *H. pannosum*. Variation exceeding the approximate measurement inaccuracy threshold of 3.5% was detected in seven

species, namely *H. amplexicaule*, *H. bupleuroides*, *H. laevigatum*, *H. pannosum*, *H. pictum*, *H. piliferum* and *H. prenanthoides*. In multiploid species, there was no general trend to either genome downsizing or uploading; in *H. prenanthoides* s.l. 2x/3x 2.47% (in *H. prenanthoides* I 2x/3x 0.73% downsizing); in *H. villosum* 3x/4x 0.06% downsizing; in *H. tomentosum* 2x/3x 0.36% uploading; in *H. humile* 3x/4x 0.36% uploading; in *H. alpinum* 0.17% uploading.

However, variation in the more naturally delimited (without heterogeneity in ETS sequences and inter-population genome size, see Material and Methods) *H. prenanthoides* and *H. bupleuroides* is below the threshold of 3.5% variation. Variation within the separately treated populations of morphologically heterogeneous *H. pannosum* was also below 3.5% (Table 1). In further paragraphs, these ‘narrower’ taxa (a total of 47 taxa) are used.

C-values in the total set of ‘basic’ species

The mean 2C values differed up to 2,37-fold among different species (from 7.03 pg in diploid *H. stelligerum* to 16.67 in a tetraploid accession of *H. pannosum*). The 1Cx values varied 1,22-fold (between 3.51 pg in *H. stelligerum* and 4.34 pg in *H. viosum*). Differences in 1Cx values among all species (n = 47) were statistically significant ($F_{46, 168} = 261.42$, $p < 0.001$). The Scheffé post hoc test ($\alpha = 0.05$) revealed 15 groups (Table 1). The 1Cx values of diploids (incl. diploid accessions of multiploid species, means for species/cytodemes) varied 1,22-fold between 3.51 pg in *H. stelligerum* and 4.29 pg in *H. plumulosum* (mean 1Cx value 3.92 pg), in triploids (incl. triploid accessions of multiploid species (means for species/cytodemes) 1,23-fold between 3.53 pg in *H. bifidum* and 4.35 pg in *H. viosum* (mean 1Cx value of 3.81 pg), and in tetraploids 1,17-fold between 3.56 pg in *H. humile* and 4.17 pg in *H. pannosum* II. (mean 1Cx value of 3.79). Differences in 2C values among diploid species/cytotypes were also statistically significant ($F_{15, 78} = 585.03$, $p < 0.001$). The Scheffé post hoc test ($\alpha = 0.05$) revealed six groups, containing accessions statistically not different in their 1Cx values (Table 1).

Correlation of genome size with basic phylogenetic signal

These analyses were restricted to the subset of accessions also included in molecular analyses in order to assure that their origin was correctly inferred. The ‘western’ clade included 15 accessions: 2C values ranged from 7.03 pg in diploid *H. stelligerum* to 14.25 pg in a tetraploid accession of *H. humile*; 1Cx values ranged from 3.51 pg in *H. stelligerum* to 4.28 pg in *H. transylvanicum* (mean \pm s.d.: 3.61 ± 0.19 pg) (without *H. transylvanicum* up to 3.74

pg in *H. tomentosum*, 3.57 ± 0.06 pg). The eastern clade also comprised 15 accessions: 2C values ranged from 7.78 pg in diploid *H. porrifolium* to 15.71 pg in a tetraploid accession of *H. villosum*; 1Cx values ranged from 3.63 pg in *H. naegelianum* to 4.35 pg in *H. viosum* (4.02 ± 0.20 pg). Significant differences in 1Cx values were found between both groups at $\alpha = 0.001$ (Student t-test), both with ($t = -5.71$, d.f. = 28, $p < 0.001$) and without ($t = -8.23$, d.f. = 27, $p < 0.001$) *H. transylvanicum*. Differences in 1Cx values between accessions of the ‘western’ and ‘eastern’ clades and of inter-clade hybrid accessions are significant independently of including *H. transylvanicum* ($F = 13.79$, d.f. = 45, $p < 0.001$ with *H. transylvanicum*, $F = 20.87$, d.f. = 44, $p < 0.001$ without *H. transylvanicum*) (Fig. 2A). However, post hoc comparison (Scheffé test) revealed only two groups at $\alpha = 0.05$, the first comprising all ‘western’ accessions, and the second embracing the ‘eastern’ and ‘hybrid’ accessions. Thus, the latter two do not differ significantly from each other. Significant differences were found also between five groups, i.e., after splitting the bulk of hybrids into three groups, namely hybrids with intermediate position, and hybrids with strongly dominating ‘western’ or ‘eastern’ ETS sequences ($F = 17.07$, d.f. = 43, $p < 0.001$ with *H. transylvanicum*, $F = 28.86$, d.f. = 42, $p < 0.001$ without *H. transylvanicum*). The Scheffé test revealed two groups at $\alpha = 0.05$, the first including W and X(W) accessions, the second X, X(E) and E accessions (Fig. 2B). Significant correlation (Spearman rank coefficient $r = 0.705$, $p < 0.001$) between phylogeny (five groups – W,E, X, X(W) and X(E)) and the pattern of genome size variation was found.

Correlation between genome size and ploidal level, breeding system and ecological features

Diploids differed significantly in their 1Cx values from both triploids ($t = 2.71$, d.f. = 196, $p = 0.007$) and tetraploids ($t = 2.01$, d.f. = 109, $p = 0.047$), but triploids did not differ significantly from tetraploids ($t = 0.72$, d.f. = 119, $p = 0.476$) (Fig. 3). The value of the Spearman non-parametric rank order correlation coefficient was $r = -0.179$, $p = 0.009$. The mean 1Cx value was 3.93 pg in diploids, 3.82 pg in triploids and 3.78 pg in tetraploids, suggesting a trend towards smaller genome size with increasing ploidal level.

Comparison between 1Cx values of sexually reproducing plants (the set coincides with diploids, polyploids were exclusively apomictic) and apomicts (tri- and tetraploids) revealed significant difference at $\alpha = 0.01$ (t-test, $t = 3.04$, d.f. = 213, $p = 0.003$); the mean 1Cx value in sexuals is 3.93 pg, while in apomicts it is 3.82 pg, corresponding to the value for triploids due to the low number of tetraploid accessions.

The genome size of particular accessions was significantly correlated with their geographic position (longitude) in west–east direction, both in the complete set of accessions (Spearman rank coefficient $r = 0.562$, $p < 0.001$, Fig. 4A) and after exclusion of widely distributed species ($r = 0.617$, $p < 0.001$; i.e., without *H. bifidum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. murorum*, *H. sabaudum* and *H. umbellatum*, Fig. 4B). The correlation was stronger in the second case due to the strong dependence on the part of the geographic area from which the target plants of widespread species were sampled. Even stronger correlation was found between longitude and genome size in a set of accessions with known ETS sequences independently of including ($r = 0.649$, $p < 0.001$, Fig. 5A) or excluding ($r = 0.694$, $p < 0.001$, Fig. 5B) accessions of widely distributed species, suggesting that phylogenetic constraint rather than geographic distribution was the main factor affecting genome size differentiation.

No correlation between genome size and latitude ($r = 0.051$, $p = 0.636$) nor with altitude ($r = -0.208$, $p = 0.049$) was found (complete set of accessions, results not shown). Also, no significant correlation was found between genome size and selected ecological parameters (Ellenberg's indicator values), namely temperature ($r = 0.194$, $p = 0.427$) and light ($r = -0.236$, $p = 0.331$) in a subset of species occurring in Central Europe (results not shown).

DISCUSSION

Chromosome numbers and mode of reproduction

Chromosome numbers for plants from 46 populations belonging to 26 species are published here for the first time, counts for the remaining accessions have been published elsewhere (Chrtěk *et al.*, 2007). Among the new data, a new ploidal level (diploid) is reported for *H. gymnocephalum* (s.l.); previously reported counts (Niketić *et al.*, 2006) refer only to triploids ($2n = 3x = 27$). After *H. petrovae*, this is the second diploid count within sect. *Pannosa*. Worth mentioning is also the diploid ($2n = 2x = 18$) count for *H. prenanthoides* from the Western Alps. Although this number had been reported from the same area in the sixties of the 20th century (Favarger, 1969; Löve, 1969), it was never confirmed until now. The remaining chromosome numbers correspond to previously published counts for the target species (cf. Schuhwerk, 1996; and other standard reference manuals).

Analysis of the mode of reproduction confirmed the pattern already published for selected species and suggested it to be generally valid throughout the genus – diploid species reproduce sexually and are allogamous while polyploids are agamosperous.

Intraspecific genome size variation

Variation beyond arbitrary fluctuation (3.5%) was found in seven species in the sense of Zahn, namely *H. piliferum* (3.89%), *H. amplexicaule* (3.95%), *H. bupleuroides* (4.2%), *H. laevigatum* (4.28%), *H. pictum* (5.14%), *H. prenanthoides* (7.02%) and *H. pannosum* (7.2%). All are agamosperous polyploids, two of them including two cytodesmes (*H. amplexicaule* – 3x/4x and *H. prenanthoides* – 2x/3x). As only a subset of populations was used for phylogenetic analysis, these results need to be interpreted with caution. In several cases where sequence data were obtained for more than one accession, we found multiple origin within a given taxon, namely in *H. prenanthoides*, *H. bupleuroides*, *H. pilosum* and *H. villosum*, which allows a plausible explanation of genome size variation at least for *H. prenanthoides*. In this species, we analyzed sequences of three accessions, one being diploid and two triploid. All three had different origin, and the sequence of the last accession (Andorra, 3x) showed the strongest signature of hybrid origin between the ‘western’ and ‘eastern’ clade. This fits well with the 1Cx values – while values of the first two populations ranged from 3.56 pg to 3.67 pg, the averaged population 1Cx value of the Andorra population was higher (3.81 pg) and thus well congruent with a possible scenario of past introgression by a plant of the ‘eastern’ clade (although there are no traces of such an introgression in the morphology). *Hieracium laevigatum*, *H. amplexicaule*, and *H. piliferum* are, according to the ETS sequences, hybrids/hybridogeneous types (at least the analyzed accessions), and higher intraspecific variation might reflect recurrent polytopic origin. High inter-population variation in *H. pannosum* could also be related to multiple origin as suggested by the different ploidal levels of the analyzed accessions. The high variation in *H. pictum* cannot be explained by our data. Broader sampling for molecular analysis in these species might reveal hybrid accessions that have not been discovered as yet. Thus, we did not find unequivocal evidence for intraspecific genome size variation in ‘good’ species of subgenus *Hieracium*.

Similar results were obtained for *Hieracium* subgenus *Pilosella* where the majority of wild species/cytotypes possess constant nuclear DNA amounts (variation in fluorescence intensity lower than 3.5%). Nevertheless, higher divergence was observed in six cytotypes belonging to three ‘intermediate’ species (the same terms as in *Hieracium* s.str., i.e.

hybrids/hybridogeneous species) and among genetically variable F₁ offspring of experimental crosses between hexaploid *H. rubrum* and tetraploid *H. pilosella* (Suda *et al.*, 2007).

Intraspecific genome size variation in ‘non-hybridogeneous’ species became recently an important matter of debate (Murray, 2005). While many of the examples of variation have been shown to be artifacts of the measurement methods (e.g. Teoh and Rees, 1976; Greilhuber, 1998; 2005), there are some reports documenting C-value variation where appropriate controls and standards have been used (Reeves *et al.*, 1998; Hall *et al.*, 2000; Moscone *et al.*, 2003; Pecinka *et al.*, 2006).

Interspecific genome size variation

Our estimates of nuclear DNA content in *Hieracium* subgen. *Hieracium* are the first ones published for this group; all other data on *Hieracium* available so far refer to species of (subgen.) *Pilosella* (Bennett and Leitch, 2005) whose genomes are considerably smaller than those of *Hieracium* subgen. *Hieracium* (see below). Holoploid (2C) genome sizes in *Hieracium* species included in the present study ranged 2,37-fold from 7.03 pg to 16.67 pg (mean 2C value 10.16 pg, median 10.61 pg). As we investigated almost all the so-called ‘basic’ species, our results should well cover the genome size variation within the subgenus. A few pentaploid hybridogeneous (i.e., not ‘basic’) taxa exist which were not analyzed, and thus the upper limit can be higher. Statistical significance of differences between species was investigated by ANOVA, and the Scheffé test was applied to show which accessions are statistically not different in Cx values. Variation in Cx values among species is relatively high (up to about 20%), but more or less continuous. However, all accessions of species belonging to e.g. sections *Cerinthoidea*, *Stelligera* and *Amplexicaulia* fall into groups with the lowest Cx values, and all accessions of species from e.g. sections *Hieracioides*, *Eriophora* and *Sabauda* into groups with highest Cx ranges. The groups with middle Cx values are formed by species of e.g. sections *Drepanoidea* and *Villosa* (section names follow Stace, 1998). In a subset of diploids, six Scheffé groups were revealed. All but one group (c) include more than one species. The first two groups (a,b) comprise Pyrenean species of sect. *Cerinthoidea*, *H. stelligerum* which is an endemic of a few localities in southern France, and *H. prenanthoides*, a widely distributed mountain species. Group c includes only *H. tomentosum*, groups d and e are formed by the SE European species *H. sparsum* and *H. petrovae*, *H. alpinum* (in which the diploid cytotype is most likely restricted to the eastern and southern Carpathians), and *H. porrifolium*, a relict species confined to the southeastern Alps. Group f comprises the Balkan species *H. kittanae*, *H. gymnocephalum*, and *H. plumulosum*, together with *H.*

transylvanicum, widely distributed *H. umbellatum*, and *H. eriophorum*, a local endemic of southwest France most likely derived from *H. umbellatum*. To conclude, the Scheffé groups more or less coincide with geographic ranges of the target species.

In *Hieracium* subgenus *Pilosella* with the same basic chromosome number ($n=9$), holoploid (2C) genome size differs 4,33-fold and ranges from 3.53 pg to 15.30 pg (Suda *et al.*, 2007). However, *Pilosella* has a more extensive variation in ploidal levels, ranging from diploids to octoploids. Monoploid genome sizes (1Cx values) in subgen. *Hieracium* ranged 1,22-fold from 3.51 pg to 4.29 pg (mean 2C value 3.86 pg, median 3.85 pg) while genome size in *Pilosella* is distinctly lower (it varies 1,23-fold from 1.72 pg to 2.16 pg), i.e., *Pilosella* has consistently about half the DNA content compared to *Hieracium*. The reasons for these large differences among closely related groups (Fehrer *et al.*, 2007) are unclear at the moment. Chromosomes of subgen. *Hieracium* are distinctly larger than those of *Pilosella* (no quantitative assessments available). Accumulation of repetitive sequence elements like in other plant groups might be one of the causes, but insights into *Hieracium* genomes are still lacking to date.

Genome size and ploidal level

Diploid hawkweeds differ significantly in their 1Cx values from both triploids and tetraploids, but the latter do not differ from each other. This might indicate general downsizing of genomes in polyploid hawkweeds. However, there is no general trend to either downsizing or uploading within multiploid species. Their origin remains to be elucidated in many cases and could involve autopolyploid origin as well as participation of another taxon (introgression which cannot always be detected by morphology). In the family Asteraceae, a similar situation was documented in the genus *Centaurea* s.l. in four multiploid (consisting of diploid and tetraploid cytotypes) species where downsizing was found in two species, uploading in one species and equal monoploid genome size in one species (Bancheva and Greilhuber, 2006). However, downsizing of the genome after polyploidization is widely supposed to be a general trend in angiosperms (Kellogg and Bennetzen, 2004; Leitch and Bennett, 2004; Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2006), as it seems to be the case for *Hieracium*. Our data also suggest that species with autopolyploid origin might have more uniform genome size (and morphology) than allopolyploids of multiple (hybrid) origin.

Genome size and phylogeny

Genome size distribution basically matches two phylogenetically defined major lineages, i.e. a ‘western’ and an ‘eastern’ group (Fehrer *et al.*, in prep.), i.e., it reveals a strong phylogenetic component of nuclear DNA content. Both groups include sexual diploids, agamospermous triploids and very rarely tetraploid apomicts. A similar pattern has also been observed with regard to the geographic ranges – both groups comprise local endemics (e.g. *H. stelligerum* and species of sect. *Cerinthoidea* in the ‘western’ group; *H. kittanae*, *H. petrovae*, and *H. eriophorum* in the ‘eastern’ group) as well as rather widely distributed species (e.g. *H. murorum* and *H. bifidum* in the ‘western’, and *H. umbellatum* in the ‘eastern’ group). The phylogenetic component of genome size does not differ between sets of diploid and polyploid accessions (despite indication for some genome downsizing in polyploids) and thus, all cytodesmes were analysed together.

As mentioned above, *H. transylvanicum* falls into the phylogenetically defined western lineage, but has a genome size and geographic range congruent with the ‘eastern’ group. Two alternative scenarios for its origin can be proposed: 1) The species has an originally eastern origin as suggested by its current distribution and DNA content and was introgressed a long time ago by species from the western clade some of which are widespread. Its ETS sequence then became completely homogenized towards the western type by concerted evolution (Arnheim, 1983). In this case, the introgression by western type species should be very ancient. 2) The species originated in western Europe, spread towards the east, the original populations became extinct probably during the Ice Ages, and only the eastern populations survived in an eastern glacial refuge like the Carpathian basin. In this case, the high DNA content may rather be correlated with its eastern distribution or have still other reasons than reflecting phylogenetic signal. Another accession of a ‘western’ clade species, *H. lachenalii*, has a chloroplast DNA matching some ‘eastern’ clade species which suggests ancient introgression (Fehrer *et al.*, in prep.). Correspondingly, its DNA content is also slightly higher than that of most other species of the ‘western’ clade. *Hieracium eriophorum*, a local endemic of the Atlantic coast near Arcachon in W France, is another species with incongruent geographic distribution range and position in the phylogenetic tree. Despite its western European distribution, it is most likely derived from widespread *H. umbellatum*, a species belonging to the same ‘eastern’ subclade according to the phylogenetic analysis (Fehrer *et al.*, in prep.). The particular morphology of *H. eriophorum* could be therefore interpreted as a local adaptation to sand dunes along the sea coast. The lowest genome size within the ‘eastern’ clade ($2C = 10.89$ pg, $1Cx = 3.63$ pg) was detected in triploid *H. naegelianum*. The distribution of this species fits well with other ‘eastern’ species as it occurs in the Balkan

Peninsula and in the Abruzzo Mts. in central Italy, mostly in refugial areas. With respect to morphology, it is the only *Hieracium* (subgen. *Hieracium*) species with long below-ground stolons, which enable the plant to spread vegetatively. While no evidence of introgression from a ‘western’ species is apparent from molecular data, its occurrence in Italian glacial refuges could be indicative of past contacts and introgression from which only an unusually small genome size is left. Its chloroplast DNA is unique, and its particular relationships with other ‘eastern’ clade species are unresolved.

Hybrid (hybridogeneous) ‘basic’ species

Apart from non-hybridogeneous basic species and hybridogeneous species between members of the same major clade, several ‘basic’ species were found to be of hybrid origin between ‘eastern’ and ‘western’ clade species (Fehrer *et al.*, in prep.): *H. amplexicaule*, *H. bracteolatum*, *H. caesium*, *H. glaucum*, *H. gouanii*, *H. gymnocephalum*, *H. heterogynum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. olympicum*, *H. plumulosum*, *H. prenanthoides*, *H. racemosum*, and *H. sabaudum*. In addition, individual accessions of *H. pilosum* and *H. villosum* also had this kind of hybrid origin. Based on the known mean 1Cx values for the ‘western’ and ‘eastern’ groups (3.61 and 4.02 pg, respectively), intermediate genome sizes of the previously mentioned species might be expected. However, hybrid accessions were more similar to the ‘eastern’ species group and significantly different from the ‘western’ group. The median 1Cx values of intermediate hybrid taxa and those with dominating ‘eastern’ ETS sequence were even higher than those for both clades (Fig. 2b). Potential interpretations could be to assume nowadays extinct parents with higher genome size or, alternatively, an increase in DNA content in hybrid-derived species in comparison to their parents, as has been documented in *Helianthus* by Baack *et al.* (2005). Our results also show that hybrids/hybridogeneous types with strongly dominating ‘western’ type ETS (e.g., *H. amplexicaule*, *H. caesium*, *H. gouani*, *H. lachenalii* and *H. prenanthoides*) have very similar DNA content in comparison with ‘western’ species, which is significantly different from hybrids with equal contribution of ‘eastern’ and ‘western’ parents. This might suggest repeated backcrossing towards ‘western’ species at the diploid level before genomes became fixed by apomixis. Intermediate hybrids with dominant ‘eastern’ ETS expectedly did not differ significantly from either ‘intermediate’ hybrids or ‘eastern’ species.

Genome size and ecogeographic features

In order to possibly identify further components of genome size variation for *Hieracium*, we tested correlations with a number of other factors.

A significant positive correlation was found between 1Cx value and geographic longitude of sampling sites, both in the complete set of accessions and in a restricted set without species with large distribution areas where the results strongly depend on sampling. Restriction of these analyses to accessions analyzed by molecular data showed that these correlations were even stronger when accessions of ambiguous origin were excluded. Thus, phylogenetic constraint is most likely the determining factor of genome size variation in *Hieracium* rather than longitudinal distribution.

In *Hieracium* subgen. *Pilosella* (Suda *et al.*, 2007), a longitudinal component of genome size distribution was found as well: the highest 1Cx values were detected in *H. echioides*, a species distributed mainly in steppic habitats in Asia and eastern Europe (and moreover well differentiated from the remaining species by the absence of a basal leaf rosette at flowering time). However, no comparison with species relationships is available. An opposite relation between genome size distribution and geographic ranges has been observed in genus *Cirsium*, another member of the family Compositae (Bureš *et al.*, 2004). These authors found a negative correlation between genome size and the eastern limit of geographic distribution, i.e., species occurring at the eastern boundary of their distribution range had smaller genomes. However, our data are not fully comparable with those by Bureš *et al.* (2004) as an exact delimitation of the distribution range in many *Hieracium* species is not known and thus we refrained from an exact statistical comparison of genome size and distribution limits. At the intraspecific level, a geography-correlated variation in DNA content with an increase towards the east has been documented, e.g. in several taxa of the grass genus *Koeleria* (Pecinka *et al.*, 2006), but no correlation was found in, e.g. *Sesleria albicans* (Lysák *et al.*, 2000). Thus, there does not seem to be a general trend in genome size variation in relation to longitude, but rather a dependence on the particular plant group analyzed. The same holds for a relation between genome size and latitude, but the data mostly refer to intraspecific variation (Ceccarelli, 1992; 1994; Lysák *et al.*, 2000).

Another geographical feature that was studied is altitude. The correlation between this parameter and genome size has been a matter of debate in the past years, and divergent results have been obtained. In *Hieracium* s.str., genome size variation does not depend on altitude. However, our data had to be based on altitudes of our sampling sites and are therefore biased by this selection, especially in species occurring across a large range of different altitudes (e.g. *H. bifidum*). Similarly, no correlation between genome size and altitude in the family Asteraceae was found in *Cirsium* (Bureš *et al.*, 2004), *Artemisia* and *Tripleurospermum* (Garcia *et al.*, 2004; 2005). In other families, no or even a negative correlation between

genome size and altitude was found by Creber *et al.* (1994), Reeves *et al.* (1998) and Vilhar *et al.* (2002) (all on intraspecific variation in *Dactylis glomerata*), and by Ceccarelli *et al.* (1994) on *Vicia faba*. On the other hand, an increase in genome size with higher altitude was found in *Centaurea* s.str. (Bancheva and Greilhuber, 2006) and in some groups of grasses (Bennett, 1976; Laurie and Bennett, 1985; Rayburn and Auger, 1990). Thus, altitudinal genome size variation also seems to be dependent on the particular plant group analyzed. In *Hieracium*, there are specifically mountaineous or alpine taxa, but they are distributed in the Pyrenees, the Alps or the Balkan mountains, and therefore, the phylogenetic constraint or the east–west correlation are dominating factors influencing genome size.

We also did not find a correlation between Cx values and two selected approximate ecological parameters published for German plant species by Ellenberg *et al.* (1992), namely light and temperature. However, the use of Ellenberg's indicator values for *Hieracium* is ambiguous. On the one hand, many *Hieracium* species have large ecological amplitudes and therefore these approximate values could indeed be useful indicators, on the other hand, these values are only available for Central European species, and therefore species confined to either western or eastern Europe had to be excluded.

Conclusion

Genome size variation in *Hieracium* subgen. *Hieracium* is congruent with the phylogenetic pattern, species of putative western European origin having significantly lower genome size in comparison with those of eastern European origin. The genome size of particular accessions was also positively correlated with their geographic longitude in west–east direction, but the correlation between genome size and phylogeny was stronger. Thus, correlation with longitude and also with other ecogeographic variables such as latitude, altitude, light and temperature was superimposed by phylogenetic constraint.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Supplementary information providing detailed information about the sample localities is available at [Supplementary information].

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank S. Bräutigam, R. Douzet, E. Forey, J. Hadinec, P. Ignatova, A. Krahulcová, F. Krahulec, M. Král, K. Marhold, P. Mráz, M. Niketić, A. N. Sennikov, Z. Szelaĝ, T. Tyler, V. Vladimirov and V. Zavadil for providing us with plant material of several species; G. Mateo, J. A. Rosselló and B. Vreš for their generous help with the field sampling and G. Mateo, F. Schuhwerk and Z. Szelaĝ for the determination of some plants. We are grateful to Pavel Trávníček for expert help in the flow cytometry lab, João Loureiro and Jan Suda for critically reading the manuscript, and particularly to S. Bräutigam and P. Mráz for discussions and many valuable comments. The work was supported by the Czech Science Foundation (grant no 206/05/0657) and the Academy of Sciences of the Czech Republic (AV0Z60050516).

LITERATURE CITED

- Albach DC, Greilhuber J. 2004.** Genome size variation and evolution in *Veronica*. *Annals of Botany* **94**: 897–911.
- Arnheim N. 1983.** Concerted evolution of multigene families. In: Nei M, Koehn R, eds. *Evolution of genes and proteins*. Sunderland, Mass.: Sinauer, 38–61.
- Arumuganathan K, Earle ED. 1991.** Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reports* **9**: 208–218.
- Baack EJ, Whitney KD, Rieseberg LH. 2005.** Hybridization and genome size evolution: timing and magnitude of nuclear DNA content increases in *Helianthus* homoploid hybrid species. *New Phytologist* **167**: 623–630.
- Bancheva S, Greilhuber J. 2006.** Genome size in Bulgarian *Centaurea* s.l. (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* **257**: 95–117.
- Barakat A, Carels N, Bernardi G. 1997.** The distribution of genes in the genomes of Gramineae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 6857–6861.
- Bennett MD. 1972.** Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society London, Series B, Biological Sciences* **181**: 109–135.
- Bennett MD. 1976.** DNA amount, latitude and crop plant distribution. In: Jones K, Brandham PE, eds. *Current chromosome research*. Amsterdam: North-Holland, 151–158.

- Bennett MD, Leitch IJ. 1995.** Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany* **76**: 113–176.
- Bennett MD, Leitch IJ. 2005.** Plant DNA C-values Database (release 5.0, December 2004). <http://www.kew.org/cval/homepage.html> (Accessed 28 December 2007).
- Bennett MD, Leitch IJ, Hanson L. 1998.** DNA amounts in two samples of angiosperm weeds. *Annals of Botany* **82** (Suppl. A): 121–134.
- Bennetzen JL. 2002.** Mechanisms and rates of genome expansion and contraction in flowering plants. *Genetica* **115**: 29–36.
- Bennetzen JL, Ma JX, Devos KM. 2005.** Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of Botany* **95**: 127–132.
- Bottini M, Greizerstein E, Aulicino M, Poggio L. 2000.** Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NW Patagonian species of *Berberis* L. (Berberidaceae). *Annals of Botany* **86**: 565–573.
- Buitendijk JH, Boon EJ, Ramanna MS. 1997.** Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. *Annals of Botany* **79**: 343–353.
- Bureš P, Yi-Feng Wang, Horová L, Suda J. 2004.** Genome size variation in Central European species of *Cirsium* (Compositae) and their natural hybrids. *Annals of Botany* **94**: 353–363.
- Ceccarelli M, Falistocco E, Cionini PG. 1992.** Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinaceae*. *Theoretical and Applied Genetics* **83**: 273–278.
- Ceccarelli M, Minelli S, Maggini F, Cionini PG. 1994.** Genome size variation in *Vicia faba*. *Heredity* **74**: 180–187.
- Chrtek J Jr, Mráz P, Severa M. 2004.** Chromosome numbers in selected species of *Hieracium* s.str. (*Hieracium* subgen. *Hieracium*) in the Western Carpathians. *Preslia* **76**: 119–139.
- Chrtek J Jr, Mráz P, Zahradníček J, Mateo G, Szelağ Z. 2007.** Chromosome numbers and DNA-ploidy levels of selected species of *Hieracium* s.str. (Asteraceae). *Folia Geobotanica* **42**: 411–430.
- Creber HMC, Davies MS, Francis D, Walker HD. 1994.** Variation in DNA C value in natural populations of *Dactylis glomerata* L. *New Phytologist* **128**: 555–561.
- Devos K, Brown J, Bennetzen J. 2002.** Genome size reduction through illegitimate recombination counteracts genome expansion in *Arabidopsis*. *Genome Research* **12**: 1075–1079.

- Doležel J, Doleželová M, Novák F. 1994.** Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). *Biologia Plantarum* **36**: 351–357.
- Ellenberg H, Weber HE, Düll R, Wirth V, Werner W, Paulissen D. 1992.** Indicator values of plants in Central Europe. *Scripta Botanica* **18**: 1–258.
- Favarger C. 1969.** Notes de caryologie Alpine V. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* **92**: 13–30.
- Fehrer J, Gemeinholzer B, Chrtek J Jr, Bräutigam S. 2007.** Incongruent plastid and nuclear DNA phylogenies reveal ancient intergeneric hybridization in *Pilosella* hawkweeds (*Hieracium*, Cichorieae, Asteraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **42**: 347–361.
- Fehrer J, Krak K, Chrtek J Jr.** Molecular evolution in diploids and apomictic polyploids of *Hieracium* (Lactuceae, Asteraceae): a history of deep divergence, reticulation and extinct variation (manuscript).
- Flavell RB, Rimpau J, Smith DB. 1977.** Repeated sequence DNA relationships in four cereal genomes. *Chromosoma* **63**: 205–222.
- Gadella TWJ. 1987.** Sexual tetraploid and apomictic pentaploid populations of *Hieracium pilosella* (Compositae). *Plant Systematics and Evolution* **157**: 219–246.
- Garcia S, Inceer H, Garnatje T, Vallès J. 2005.** Genome size variation in some representatives of the genus *Tripleurospermum*. *Biologia Plantarum* **49**: 381–387.
- Garcia S, Sanz M, Garnatje T, Kreitschitz A, McArthur ED, Vallès J. 2004.** Variation of DNA amount in 47 populations of the subtribe Artemisiinae and related taxa (Asteraceae, Anthemideae): karyological, ecological, and systematic implications. *Genome* **47**: 1004–1014.
- Garnatje T, Vallès J, Garcia S, Hidalgo O, Sanz M, Canela MA, Siljak-Yakovlev S. 2004.** Genome size in *Echinops* L. and related genera (Asteraceae, Cardueae): karyological, ecological and phylogenetic implication. *Biology of the Cell* **96**: 117–124.
- Govindaraju DR, Cullis CA. 1991.** Modulation of genome size in plants: the influence of breeding systems and neighbourhood size. *Evolutionary Trends in Plants* **5**: 43–51.
- Greilhuber J. 1998.** Intraspecific variation in genome size: a critical reassessment. *Annals of Botany* **82** (Suppl. A): 27–35.
- Greilhuber J. 2005.** Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. *Annals of Botany* **95**: 91–98.

- Grotkopp E, Rejmanek M, Sanderson MJ, Rost TL. 2004.** Evolution of genome size in pines (*Pinus*) and its life-history correlates: Supertree analyses. *Evolution* **58**: 1705–1729.
- Hall SE, Dvorak WS, Johnston JS, Price HJ, Williams CG. 2000.** Flow cytometric analysis of DNA content for tropical and temperate new world pines. *Annals of Botany* **86**: 1081–1086.
- Jakob SS, Meister A, Blattner FR. 2004.** The considerable genome size variation of *Hordeum* species (Poaceae) is linked to phylogeny, life form, ecology, and speciation rates. *Molecular Biology and Evolution* **21**: 860–869.
- Kalendar R, Tanskanen J, Immonen S, Nevo E, Schulman AH. 2000.** Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by *BARE-1* retrotransposon dynamics in response to sharp microclimatic divergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 6603–6607.
- Keller ERJ, Schubert I, Fuchs J, Meister A. 1996.** Interspecific crosses of onion with distant *Allium* species and characterization of the presumed hybrids by means of flow cytometry, karyotype analysis and genomic *in situ* hybridization. *Theoretical and Applied Genetics* **92**: 417–424.
- Kellogg EA, Bennetzen JL. 2004.** The evolution of nuclear genome structure in seed plants. *American Journal of Botany* **91**: 1709–1725.
- Krahulcová A, Krahulec F. 1999.** Chromosome numbers and reproductive systems in selected representatives of *Hieracium* subgen. *Pilosella* in the Krkonoše Mts (the Sudeten Mts). *Preslia* **71**: 217–234.
- Labani RM, Elkington TT. 1987.** Nuclear DNA variation in the genus *Allium* L. (Liliaceae). *Heredity* **59**: 119–128.
- Laurie DA, Bennett MD. 1985.** Nuclear DNA content in the genera *Zea* and *Sorghum*. Intergeneric, interspecific and intraspecific variation. *Heredity* **55**: 307–313.
- Leitch I, Bennett MD. 2004.** Genome downsizing in polyploid plants. *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 651–663.
- Löve Á. 1969.** IOPB Chromosome number reports XXII. *Taxon* **18**: 433–442.
- Lysák MA, Doležel J. 1998.** Estimation of nuclear DNA content in *Sesleria* (Poaceae). *Caryologia* **51**: 123–132.
- Lysák MA, Rostková A, Dixon JM, Rossi G, Doležel J. 2000.** Limited genome size variation in *Sesleria albicans*. *Annals of Botany* **86**: 399–403.

- Ma J, Devos KM, Bennetzen JL. 2004.** Analyses of LTR-retrotransposon structures reveal recent and rapid genomic DNA loss in rice. *Genomic Research* **14**: 860–869.
- MacGillivray CW, Grime JP. 1995.** Genome size predicts frost-resistance in British herbaceous plants – implication for rates of vegetation response to global warming. *Functional Ecology* **9**: 320–325.
- Mateo G. 2005.** Aportaciones al conocimiento del género *Hieracium* en España, X. Novedades para el Pirineo catalán. *Flora Montiberica* **31**: 62–69.
- Morgan MT. 2001.** Transposable element number in mixed mating populations. *Genetical Research* **77**: 261–275.
- Morgan ER, Burge GK, Seelye JF, Hopping ME, Grant JE. 1998.** Production of interspecific hybrids *Limonium perezii* (Stapf) Hubb. and *Limonium sinuatum* (L.) Mill. *Euphytica* **102**: 109–115.
- Moscone EA, Baryani M, Ebert I, Greilhuber J, Ehrendorfer F, Hunziger AT. 2003.** Analysis of nuclear DNA content in *Capsicum* (Solanaceae) by flow cytometry and Feulgen densitometry. *Annals of Botany* **92**: 21–29.
- Mráz P, Chrtek J Jr, Kirschner J. 2001.** Genetic variation in the *Hieracium rohacsense* group (*Hieracium* sect. *Alpina*). *Phyton (Horn)* **41**: 269–276.
- Murray BG 2005.** When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? *Annals of Botany* **95**: 119–125.
- Niketić M, Vladimirov V, Mráz P. 2006.** Chromosome numbers and taxonomic-chorological notes on selected species of *Hieracium* s.str. (Asteraceae) from Montenegro. *Phytologia Balcanica* **12**: 85–97.
- Nogler GA. 1984.** Gametophytic apomixis. In: Johri BM, ed. *Embryology of Angiosperms*. Berlin etc.: Springer, 475–518.
- Otto F. 1990.** DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. *Methods in Cell Biology* **33**: 105–110.
- Pecinka A, Suchánková P, Lysak MA, Trávníček B, Doležel J. 2006.** Nuclear DNA content variation among Central European *Koeleria* taxa. *Annals of Botany* **98**: 117–122.
- Petrov DA. 2002.** DNA loss and evolution of genome size in *Drosophila*. *Genetica* **115**: 81–91.

- Reeves G, Francis D, Davies MS, Rogers HJ, Hodkinson TR. 1998.** Genome size is negatively correlated with altitude in natural populations of *Dactylis glomerata*. *Annals of Botany* **82**: 99–105.
- Rejmanek M, Richardson DM. 1996.** What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* **77**: 1655–1661.
- Rayburn AL, Auger JA. 1990.** Genome size variation in *Zea mays* ssp. *mays* adapted to different altitudes. *Theoretical and Applied Genetics* **79**: 470–474.
- Schuhwerk F. 1996.** *Published chromosome counts in Hieracium*.
<http://www.botanik.biologie.uni-muenchen.de/botsamml/projects/chrzlit.html> (Accessed 26 January 2008).
- Schuhwerk F. 2003 ('2002').** Some thoughts on the taxonomy of *Hieracium*. *Berichte der Bayerischen botanischen Gesellschaft* **72**: 193–198.
- Schulman AH. 1999.** Retrotransposon BARE-1 and its role in genome evolution in the genus *Hordeum*. *Plant Cell* **11**: 1769–1784.
- Sell PD, West C. 1976.** *Hieracium* L. In: Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA, Chater AO, DeFilipps RA, Richardson IBK, eds. *Flora Europaea 4*. Cambridge: Cambridge University Press, 358–410.
- Shi Y, Gornall RJ, Draper J, Stace CA. 1996.** Intraspecific molecular variation in *Hieracium* sect. *Alpina* (Asteraceae), an apomictic group. *Folia Geobotanica Phytotaxonomica* **31**: 305–313.
- Stace CA. 1998.** Sectional names in the genus *Hieracium* (Asteraceae) sensu stricto. *Edinburgh Journal of Botany* **55**: 417–441.
- Suda J, Krahulcová A, Trávníček P, Rosenbaumová R, Peckert T, Krahulec F. 2007.** Genome size variation and species relationships in *Hieracium* sub-genus *Pilosella* (Asteraceae) as inferred by flow cytometry. *Annals of Botany* **100**: 1323–1335.
- Swift H. 1950.** The constancy of deoxyribose nucleic acid in plant nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **36**: 643–654.
- Šiško M, Ivanič A, Bohanec B. 2003.** Genome size analysis in the genus *Cucurbita* and its use for determination of interspecific hybrids obtained using the embryo-rescue technique. *Plant Science* **165**: 663–669.
- Štorchová H, Chrtek J. Jr, Bartish IV, Tetera M, Kirschner J, Štěpánek J. 2002.** Genetic variation in agamosperous taxa of *Hieracium* sect. *Alpina* (Compositae) in the Tatry Mts. (Slovakia). *Plant Systematics and Evolution* **235**: 1–17.

- Teoh SB, Rees H. 1976.** Nuclear DNA amounts in populations of *Picea* and *Pinus* species. *Heredity* **36**: 123–137.
- Thalmann C, Guadagnuolo R, Felber F. 2000.** Search for spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.) in agricultural zones and evaluation of the genetic diversity of the wild species. *Botanica Helvetica* **111**: 107–119.
- Vicient CM, Suoniemi A, Anamthawat-Jónsson K, Tanskanen J, Beharav A, Nevo E, Schulman AH. 1999.** Retrotransposon BARE-1 and its role in genome evolution in the genus *Hordeum*. *Plant Cell* **11**: 1769–1784.
- Vilhar B, Vidic T, Jogan N, Dermastia M. 2002.** Genome size and the nucleolar number as estimators of ploidy level in *Dactylis glomerata* in the Slovenian Alps. *Plant Systematics and Evolution* **234**: 1–13.
- Vladimirov V. 2003.** A new diploid *Hieracium* (Asteraceae: Lactuceae) from Bulgaria. *Botanical Journal of the Linnean Society* **143**: 213–218.
- Vladimirov V, Szelağ Z. 2006.** A new diploid species of *Hieracium* sect. *Pannosa* (Asteraceae) from Bulgaria. *Botanical Journal of the Linnean Society* **150**: 261–265.
- Wendel JF, Cronn RC, Johnston S, Price HJ. 2002.** Feast and famine in plant genomes. *Genetica* **115**: 37–47.
- Weiss-Schneeweiss H, Greilhuber J, Schneeweiss GM. 2006.** Genome size evolution in holoparasitic *Orobanche* (Orobanchaceae) and related genera. *American Journal of Botany* **93**: 148–156.
- Zahn KH. 1921–1923.** *Hieracium*. In: Engler A, ed. *Das Pflanzenreich* 75, 76, 77, 80, 82 (IV/280). Leipzig: Wilhelm Engelmann.
- Záveský L, Jarolímová V, Štěpánek J. 2005.** Nuclear DNA content variation within the genus *Taraxacum* (Asteraceae). *Folia Geobotanica* **40**: 91–104.
- Zonneveld BJM. 2001.** Nuclear DNA content of all species of *Helleborus* (Ranunculaceae) discriminate between species and sectional division. *Plant Systematics and Evolution* **229**: 125–130.

TABLES AND FIGURES

Table 1 – Accession origin, genome size, and basic phylogenetic structure.

Fig. 1 – Histograms of relative fluorescence in *Hieracium* s. str. species.

(A) Diploid *H. stelligerum* with smallest C- values (peak 2, mean sample Cx-value = 3.51 pg, peak ratio – 1.294, CVs – 1.97) + *Zea mays* as internal reference standard (peak 1, CVs – 1.66). (B) Triploid *H. virosum* with the largest C- values (peak 2, mean sample Cx – value = 4.34 pg, peak ratio – 1.432, CVs – 1.96) + *Pisum sativum* as internal reference standard (peak 1, CVs – 1.83).

Fig. 2 – Phylogenetic component of 1Cx values.

Only accessions for which sequence data were available are included. (A) W1: ‘western’ clade accessions without *H. transylvanicum*, W2: ‘western’ clade accessions including *H. transylvanicum*, X: inter-clade hybrid accessions, E: accessions of the ‘eastern’ clade. (B) W1, W2 and E like before, hybrids divided in those with predominant ‘western’ (X(W)), equal (X) and predominant ‘eastern’ (X(E)) ETS sequence composition (see also Table 1). The box indicates the interquartile (25–75%) range, the small square within the box the median. The whiskers indicate minimum and maximum values.

Fig. 3 – Variation of genome size among diploids, triploids and tetraploids (all samples). 1Cx values of all accessions are shown. Differences between diploids and triploids and between diploids and tetraploids are significant. The box indicates the interquartile (25–75%) range, the small square within the box the median. The whiskers indicate minimum and maximum values.

Fig. 4 – Distribution of 1Cx-values versus longitudinal position of collection sites

(A) based on the complete set of accessions/populations, Spearman rank coefficient $r = 0.562$, $p < 0.001$, (B) based on a subset after excluding accessions of widely distributed species (*H. bifidum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. murorum*, *H. sabaudum* and *H. umbellatum*), $r = 0.617$, $p < 0.001$.

Fig. 5 – Longitudinal component of genome size variation for accessions of known origin

(A) based on accessions/populations analyzed by molecular methods, Spearman rank coefficient $r = 0.649$, $p < 0.001$, (B) based on a subset after excluding accessions of widely distributed species (*H. bifidum*, *H. lachenalii*, *H. laevigatum*, *H. murorum*, *H. sabaudum* and *H. umbellatum*), $r = 0.694$, $p < 0.001$.

