

Biosystematické štúdium karpatsko-panónskych zástupcov rodu *Sesleria* (Poaceae)

projekt VEGA 2/0131/16

Anotácia projektu

Podstata vedeckého projektu

Projekt je zameraný na komplexné biosystematické štúdium zástupcov rodu *Sesleria* vyskytujúcich sa v oblasti Karpát a Panónie (druhy *S. bielzii*, *S. caerulea*, *S. heufleriana*, *S. hungarica*, *S. sadleriana*, *S. tatrae* a *S. uliginosa*). Riešené budú otázky týkajúce sa stupňa ich genetickej, karyologickej, morfologicko-anatomickej, reprodukčnej a ekologickej diferenciácie. Hoci zástupcovia rodu *Sesleria* patria k porastotvorným druhom definujúcim syntaxonómiu viacerých spoločenstiev (vrátane vzácných a endemických), ich poznanie je stále nedostatočné. S druhmi je tradične spájaná vysoká miera hybridizácie, ktorá však doposiaľ nebola experimentálne dokázaná. Predpokladá sa, že na ich evolúcii sa vo výraznej miere podieľali procesy polyploidizácie, hybridizácie a alopatrickej speciácie, avšak žiadny z uvedených aspektov nebol doposiaľ študovaný modernými metódami. Hlavným cieľom projektu bude komplexný pohľad na študované druhy, získaný kombináciou viacerých metód, ako taxonomického, tak aj ekologického prístupu.



Obr. 1. *Sesleria caerulea* na jar, v čase kvitnutia (Český kras, Česká republika).

Doba riešenia projektu

1. január 2016 – 31. december 2019

Ciele projektu

1. Stanoviť mieru genetickej diferenciácie druhov *Sesleria bielzii*, *S. caerulea*, *S. heufleriana*, *S. hungarica*, *S. sadleriana*, *S. tatrae* a *S. uliginosa*.
2. Odhaliť spôsob vzniku študovaných oktoploidných taxónov *S. bielzii*, *S. hungarica*, *S. sadleriana* a *S. tatrae*: či majú jednotlivé oktoploidné druhy monofyletický pôvod alebo vznikli/vznikajú polytopicky na lokalitách tetraploidných druhov.
3. Stanoviť absolútnu veľkosť DNA všetkých študovaných druhov.
4. Určiť mieru morfologickej, anatomickej a ekologickej diferenciácie všetkých študovaných druhov. Zhodnotiť, ktoré z doposiaľ uvádzaných rozlišovacích znakov sú vhodné a ktoré naopak nevhodné na určovanie druhov, prípadne identifikovať nové znaky vhodné na ich určovanie. Definovať, ktoré z anatomických a morfologických znakov (a do akej miery) korelujú s vybranými environmentálnymi faktormi prostredia (nadmorská výška, orientácia, sklon, obsahy vybraných pôdných prvkov, hĺbka, zrnitosť a pH pôdy).
5. Detekovať frekvenciu výskytu krížencov medzi druhmi *S. caerulea* a *S. tatrae* v prirodzených podmienkach.
6. Určiť mieru reprodukčnej izolácie všetkých študovaných druhov za pomoci experimentálneho kríženia. Zistiť, či sú uvedené druhy schopné krížiť sa a ak áno, stanoviť aká je životaschopnosť, resp. fertilita vzniknutého potomstva.

Súčasný stav problematiky

Rod *Sesleria* (Seslerieae, Poaceae) zahŕňa ca 30–40 druhov a poddruhov, vyskytujúcich sa najmä v Európe, čiastočne zasahujúcich do priľahlých častí severnej Afriky a západnej Ázie (Deyl 1946, 1980, Ujhelyi 1959, Strgar 1981). Mnohé z druhov rodu hrajú dôležitú úlohu vo formovaní rozličných rastlinných spoločenstiev a viaceré patria k endemickým a vzácnym (Deyl 1946, 1980, Strgar 1981).



Obr. 2. Spoločenstvo tvorené dominujúcim druhom z rodu *Sesleria*, letný aspekt (pohorie Bükk, Maďarsko).

Napriek tomu sa rod *Sesleria* zaraďuje k taxonomicky obtiažnym skupinám tráv. Medzi najvýznamnejšie príčiny jeho taxonomickej obtiažnosti sa vo všeobecnosti považujú: vysoká miera morfolologickej podobnosti druhov, fenotypová plasticita morfologických a anatomických znakov a medzidruhovú hybridizáciu (Deyl 1946, Strgar 1981, Lysák & Doležel 1998). Napriek tomu, že európskym zástupcom rodu sa v minulosti venovali viaceré štúdie (najmä autorov Deyl, Lysák, Strgar, Ujhelyi), mnohé z riešených otázok neboli doposiaľ preskúmané modernými taxonomickými metódami, akými sú: štúdium molekulárnych markerov, karyologický skrining veľkého počtu jedincov, spracovanie morfolologickej a anatomickej variability multivariačnými metódami, či štúdium environmentálnych faktorov prostredia a ich vplyv na morfologicko-anatomickú variabilitu. Priekopníckymi v tomto smere sú práce Lysáka, ktorý skúmal veľkosť genómu a ploidiu vybraných západokarpatských druhov, resp. populácií (Lysák et al. 1997, 2000, Lysák & Doležel 1998) a Kuzmanović, ktorá skúmala anatóniu vybraných balkánskych druhov multivariačnými metódami a vplyv ekologických faktorov na túto variabilitu (napr. Kuzmanović et al. 2009). Kuzmanović s kolektívom boli taktiež prví, ktorí v systematickom výskume rodu *Sesleria* úspešne uplatnili aj molekulárne markery (AFLP, chloroplastový úsek trnL-ndhF; Kuzmanović et al. 2013, Lakušić et al. 2013). Takéto štúdie v rode sú však stále veľmi zriedkavé, výsledkom čoho je existencia viacerých populácií, ktorých systematické postavenie nie je doposiaľ vyriešené.

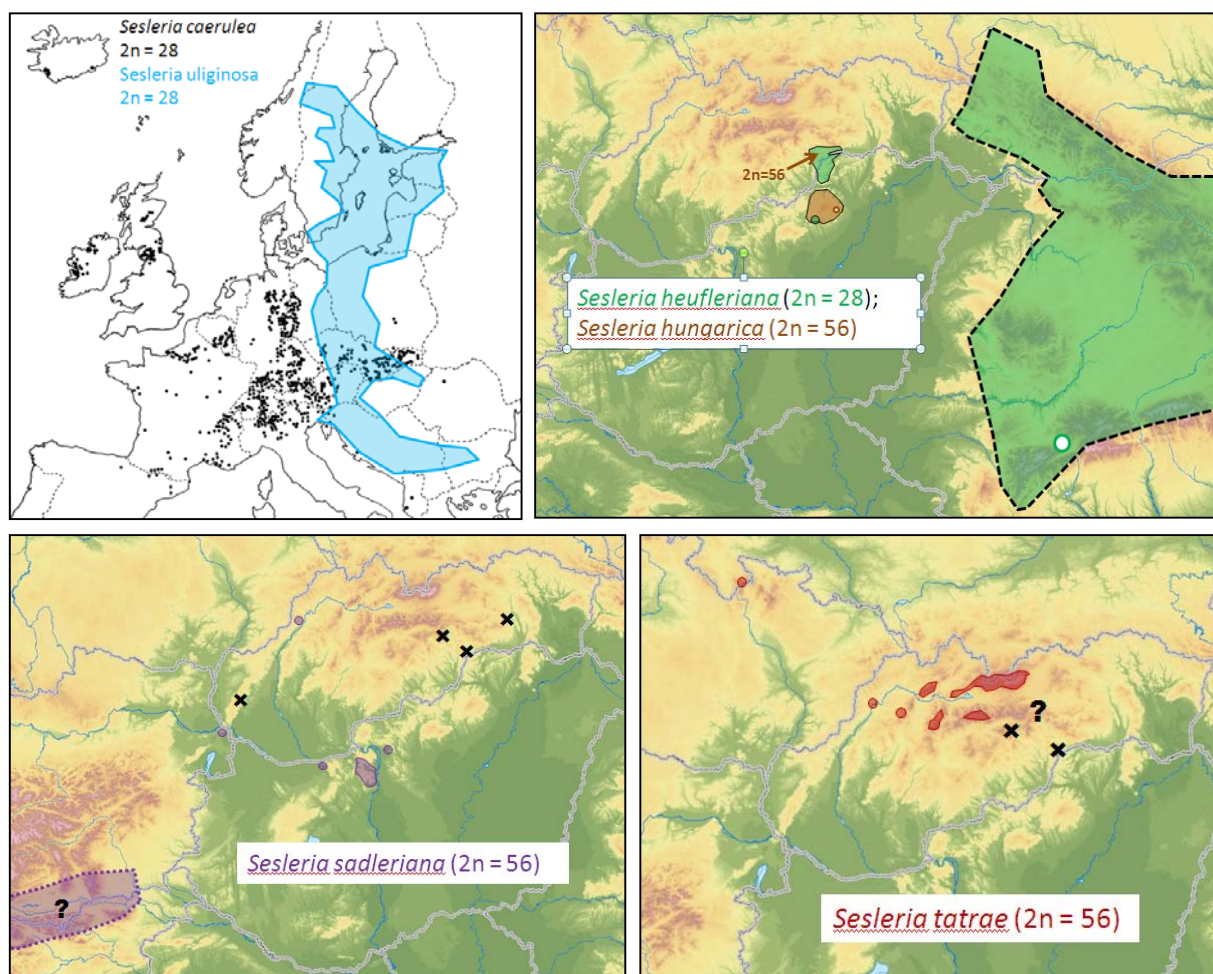
Uvedené nedostatky v poznaní sa v plnej miere vzťahujú aj na všetkých sedem karpatsko-panónskych zástupcov rodu, ktorí patria do spoločnej sekcie *Sesleria*. Viaceré z týchto druhov zohrávajú dôležitú úlohu pri formovaní rastlinných spoločenstiev, vrátane vzácných, endemických či reliktných (napr. asociácia *Oxyrio digynae-Saxifragetum carpaticae* alebo zväz *Pulsatillo slavicae-Pinion*; cf. Uhlířová 1996, 1999, Dúbravcová 2007).



Obr. 3. Spoločenstvo zväzu *Pulsatillo slavicae-Pinion* na Vršatci (miestna časť Babky; Biele Karpaty, Slovensko).

Karyologicky sa karpatsko-panónski zástupcovia rodu členia na dve ploidné úrovne: tetraploidnú ($2n = 4x = 28$) a oktoploidnú ($2n = 8x = 56$). K tetraploidným zástupcom patria: *S. caerulea*, *S. heufleriana* a *S. uliginosa*; k oktoploidným druhy: *S. bielzii*, *S. hungarica*, *S. sadleriana* a *S. tatrae*. Druh *S. heufleriana* je spomedzi nich zatiaľ jediným taxónom, u ktorého boli zistené obe ploidné úrovne: okrem prevažujúcej tetraploidnej, boli v Slovenskom krase na Plešiveckej planine zaznamenané aj 3 oktoploidné rastliny, ktoré boli provizórne zaradené k tomuto druhu (Lysák & Doležel 1998).

S. caerulea má takmer celoeurópske rozšírenie s východnou hranicou areálu v Západných Karpatoch a širokú ekologickú amplitúdu od nížin po vysokohorské pásma; *S. heufleriana* je východo- a juhokarpatský druh rozšírený od pahorkatín po horský stupeň, s exklávnym výskytom v oblasti Slovenského a Aggteleckého krasu; *S. uliginosa* je druh slatinných biotopov od nížin do podhorského stupňa, vyskytujúci sa od Pobaltskej oblasti po Balkán; *S. bielzii* je vysokohorský druh rozšírený vo Východných a Južných Karpatoch; *S. hungarica* je endemit pohoria Bükk a Uppony v Maďarsku rastúci na xerothermných biotopoch; *S. sadleriana* je endemit xerothermných pahorkov v predhorí severo-západnej časti Karpatskej kotliny a *S. tatrae* je vysokohorský taxón rozšírený v Západných Karpatoch, s jedinou exklávnou lokalitou v poľskej časti Králického Sněžníka.

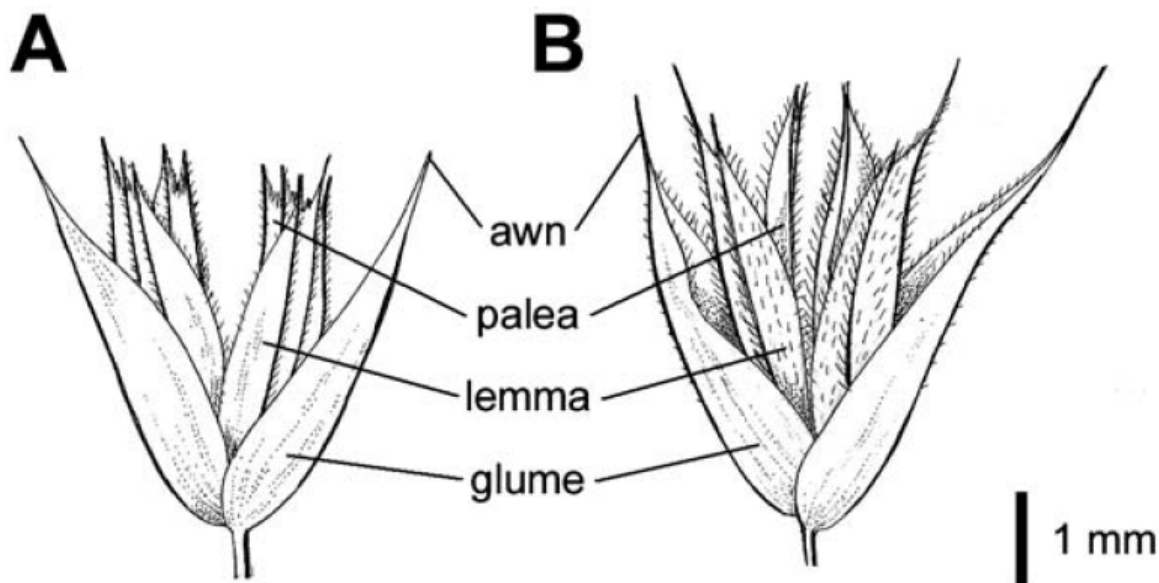


Obr. 4-7. Rozšírenie študovaných zástupcov rodu *Sesleria*.

Karpatsko-panónski zástupcovia rodu sú nedostatočne známi najmä z nasledujúcich dôvodov: (a) taxóny neboli zatiaľ skúmané geneticky (molekulárnymi metódami), (b) u druhov *S. bielzii* a *S. hungarica* nie je známa absolútna veľkosť genómu a pri druhu *S. sadleriana* je veľkosť genómu medzi populáciami veľmi odlišná a mohla by indikovať existenciu 2 druhov, (c) taxóny sa prekrývajú v anatomickej aj morfolologickej variabilite, (d) druhy neboli pokusne krížené a domnelé krížence boli determinované len podľa morfologických znakov, (e) u druhov nebola sledovaná korelácia medzi ekologickými faktormi prostredia a morfologicko-anatomicou variabilitou. Na časť z uvedených otázok sme sa pokúsili odpovedať našim predchádzajúcim štúdiom zameraným na druhy *S. caerulea* a *S. tatrae*, ktoré bolo robené v rámci dizertačnej práce M. Budzákovej. Ukázali sme, že spojením taxonomicko-fytocenologického a ekologického prístupu vieme získať viacero nových informácií o študovaných taxónoch (Budzáková & Šibík 2012, 2015, Budzáková et al. 2014). Okrem iného naše štúdium odhalilo, že hybridizácia je medzi skúmanými heteroploidnými taxónmi rodu *Sesleria* na území Západných Karpát veľmi zriedkavá, ak vôbec existuje, a že druhy *S. sadleriana* a *S. tatrae* sú si morfologicky podobné viac ako sa doposiaľ predpokladalo (Budzáková et al. 2014).



Obr. 8. Súkvetie (klas kláskov) druhu *Sesleria sadleriana* v čase kvitnutia (Sas-hegy, Budínske vrchy, Maďarsko).



Obr. 9. Klásky druhov *Sesleria caerulea* (A) a *S. tatrae* (B) s vyznačenou plevou (glume), plevicou (lemma), plievočkou (palea) a ost'ou (awn) (prevzaté z práce Budzáková et al. 2014).

Predpokladaný vlastný prínos

Náš výskum prinesie ucelený pohľad na komplikovanú skupinu karpatsko-panónskych zástupcov rodu *Sesleria*. Výstupom práce bude v prvom rade objasnenie genetickej diferenciácie taxónov, ktoré by malo dať odpoveď na dve zásadné otázky: (1) Sú všetky študované druhy geneticky dobre diferencované? (2) Má každý zo študovaných oktoploidných druhov (*S. bielzii*, *S. hungarica*, *S. sadleriana* a *S. tatrae*) monofyletický pôvod, alebo tieto druhy vznikli, resp. vznikajú polytopicky na lokalitách tetraploidov?

Pokúsime sa taktiež zistiť, či sú tetraploidné populácie karyologicky uniformné, alebo či v rámci nich nedochádza k vzniku oktoploidov, ako je to predpokladané pri 3 oktoploidných jedincoch *S. heufleriana* na lokalite v Slovenskom krase (Lysák & Doležel 1998).

Stanovíme taktiež po prvý-krát absolútnu veľkosť DNA druhov *S. bielzii* a *S. hungarica* a pri zvyšných druhoch stanovíme veľkosť DNA na doposiaľ neanalyzovaných populáciách a zo širšieho areálu.

Podrobne budeme študovať morfológické a anatomické znaky všetkých druhov. Pokúsime sa pritom zodpovedať, ktoré doposiaľ používané určovacie znaky sú najvhodnejšie na určovanie. Taktiež skúsime nájsť nové znaky, ktoré by sa pri určovaní mohli používať. Výsledkom o. i. bude určovací kľúč založený na morfológických znakoch použiteľných priamo v teréne, resp. na doplnkových anatomických znakoch odsledovateľných v laboratóriu.

Anatomické znaky budú vyhodnocované z toho dôvodu, že sú v literatúre často uvádzané ako rozlišovacie/charakteristické znaky viacerých taxónov a ich význam pre určovanie zástupcov rodu *Sesleria* bol potvrdený aj vo viacerých súčasných prácach (cf. Kuzmanovič et al. 2009, 2012a,b, 2013).

V našom výskume sa plánujeme taktiež hlbšie venovať ekológii druhov a štúdiu korelácie enviromnetálnych faktorov prostredia s morfológickými a anatomickými znakmi. Objasnená tak bude väzba druhov na jednotlivé vegetačné typy a enviromnentálne podmienky prostredia. V literatúre často uvádzaná medzidruhovú hybridizáciu bude objasnená experimentálnym

prístupom, ako aj podrobným karyologickým skríningom vybraných suspektných populácií, z ktorých boli v minulosti hlásené krížence medzi druhmi *S. caerulea* a *S. tatrae* (cf. Bělohávková 1980, Lysák 1996). Hybridizačnými pokusmi stanovíme, do akej miery existujú medzi karpatsko-panónskymi zástupcami rodu reprodukčné bariéry a do akej miery sú potenciálne vzniknuté krížence životaschopné, resp. fertílne.

V neposlednom rade by sme našim štúdiom mali dostať odpoveď na otázku systematickej príslušnosti niektorých dlhodobo sporných populácií, pri ktorých nie je istota, ku ktorému druhu vlastne patria. Týka sa to napr.: (a) oktoploidnej populácie z Vršatca, ktorá bola síce identifikovaná ako *S. sadleriana* ale s viacerými netypickými znakmi a s výrazne exklávnym výskytom (Lysák & Doležel 1998); (b) populácie z Holíša v Javorníkoch, ktorá bola síce priradená k druhu *S. tatrae*, ale je tu možnosť, že by mohlo ísť aj o *S. sadleriana* (Budzáková et al. 2014); (c) oktoploidných rastlín z Plešiveckej planiny, ktoré Lysák provizórne priradil k inak tetraploidnému druhu *S. heufleriana* (Lysák & Doležel 1998). Získané výsledky plánujeme publikovať v troch vedeckých štúdiách v zahraničných karentovaných časopisoch.



Obr. 10. Reliktné spoločenstvo na Vršatci (Biele Karpaty, Slovensko), tvorené zástupcami rodu *Sesleria*. Identita tunajších jedincov ostrevky nie je doriešená. Predpokladá sa, že ide o druh *S. sadleriana*, čo by bol najsevernejší a značne izolovaný výskyt druhu v rámci jeho areálu.

Konkrétny návrh postupu na dosiahnutie cieľov projektu, vrátane časového harmonogramu na jednotlivé roky riešenia

január 2016 – december 2016

Prehľad a syntéza relevantnej literatúry; štúdium herbárových položiek v stredoeurópskych herbároch (Praha – PR, PRC; Brno – BRNM, BRNU; Viedeň – W, WU; Bratislava – BRA, SAV, SLO; Budapešť – BP; Cluj – CL; Sibiu – SIB); realizácia prvých zberov populačných vzoriek a ekologických dát (najmä na Slovensku a v Maďarsku); prenos živých vzoriek do kultivácie; prvé anatomické analýzy kultivovaného materiálu; meranie ploidie a absolútneho množstva DNA terénnych zberov uložených v silikagéli a/alebo živého kultivovaného materiálu; zisťovanie počtu chromozómov roztlakovou metódou; testovanie molekulárnych techník a príprava protokolov v laboratóriu v Innsbrucku.

január 2017 – december 2017

Pokračovanie v zbere populačných vzoriek a ekologických dát, najmä z územia Álp, Východných a Južných Karpát, pričom pri všetkých taxónoch bude materiál zbieraný na typových lokalitách; prenos živých vzoriek do kultivácie; experimentálne kríženia jedincov pestovaných v skleníku, ktoré boli zbierané v predchádzajúcej vegetačnej sezóne, sledovanie fitness krížencov, analýza získaného potomstva za pomoci prietokovej cytometrie; morfológické a anatomické analýzy – meranie/skórovanie vybraných znakov, prvé vyhodnotenia variability znakov; karyologické analýzy – zisťovanie počtu chromozómov, meranie ploidie a absolútneho obsahu DNA; molekulárne analýzy – izolácia DNA, AFLP analýzy a analýzy vybraných chloroplastových (cpDNA) úsekov.

január 2018 – december 2018

Dokončenie zberu populačných vzoriek a ekologických dát; prenos živých vzoriek do kultivácie; experimentálne kríženia v skleníku a následná analýza získaného potomstva za pomoci prietokovej cytometrie; dokončenie morfológických, anatomických, karyologických a molekulárnych analýz a vyhodnotenie získaných dát; vyhodnotenie ekologických dát; prezentácia prvých výsledkov výskumu aktívnou účasťou na domácich a medzinárodných vedeckých podujatiach; príprava rukopisov do redakcií zahraničných karentovaných časopisov.

január 2019 – december 2019

Sumarizácia výsledkov; prezentácia výsledkov účasťou na domácich a medzinárodných vedeckých podujatiach; príprava a odoslanie rukopisov do redakcií zahraničných karentovaných časopisov.

Riešiteľský kolektív

Mgr. Monika Budzáková, PhD., vedúci projektu

Má niekoľkoročné skúsenosti v oblasti výskumu rodu *Sesleria*. V rokoch 2009–2014 sa v rámci riešenia dizertačnej práce venovala výskumu morfologickej, karyologickej a ekologickej variability druhov *Sesleria caerulea* a *S. tatrae* v Západných Karpatoch a v okolitých pohoriach, čoho výsledkom boli 3 karentované publikácie. Predkladaný projekt nadväzuje na úspešné ukončenie doktorandského štúdia pracovníčky. Počas štúdia participovala na výskume od účasti na terénnom zbere dát, cez laboratórne a štatistické spracovanie karyologických, morfológických, ekologických a fytoecologických dát až po prípravu manuskriptov. Od roku 2014 pôsobí na

Botanickom ústave SAV v Bratislave ako vedecký pracovník. Podieľa sa taktiež na projektoch venovaných výskumu vegetačných zmien v horských a alpínskych polohách Karpát. Skúsenosti má aj s aplikovaným výskumom týkajúcim sa najmä lesných porastov poškodzovaných vetrovými a ohňovými disturbanciami/kalamitami a ich následnou obnovou. V rámci predkladaného projektu je zodpovedná za koordinovanie prác s pracoviskami v Belehrade, Budapešti a Innsbrucku, terénny výskum, výskum herbárového materiálu, priebeh a vyhodnocovanie hybridizačných experimentov, merania morfometrických a anatomických znakov, získavanie environmentálnych premenných, vyhodnocovanie výsledkov molekulárnych, karyologických, morfometrických, anatomických, ekologických a fytoecologických analýz, prípravu manuskriptov.

RNDr. Pavol Mered'a, PhD., zástupca vedúceho projektu

V súčasnosti pôsobí ako vedúci Oddelenia taxonómie vyšších rastlín na Botanickom ústave SAV v Bratislave. Zaoberá sa výskumom v oblasti taxonómie, chorológie, morfometriky, karyológie (vrátane prietokovej cytometrie) a molekulárnej systematiky cievnatých rastlín. Bol zodpovedný za prípravu karyologickej databázy flóry Slovenska, v súčasnosti koordinuje práce na slovenskej floristickej databáze Dataflos. Od roku 2005 je vedeckým tajomníkom Slovenskej botanickej spoločnosti. Venuje sa štúdiu viacerých taxonomicky komplikovaných rodov ako napríklad *Chenopodium* s. l., *Epipactis*, *Senecio*, *Silene* s. l., *Viola*. V rámci predkladaného projektu je zodpovedný za karyologické analýzy (stanovenie ploidnej úrovne a absolútneho obsahu DNA), vyhodnotenie výsledkov molekulárnych, morfologických a karyologických analýz.

RNDr. Iva Hodálová, PhD., spoluriešiteľ

V súčasnosti pôsobí ako samostatný vedecký pracovník Botanického ústavu SAV v Bratislave. Špecializuje sa na výskum v oblasti taxonómie, evolúcie, morfometriky, karyológie (vrátane prietokovej cytometrie) a molekulárnej systematiky (taxonomické revízie rodov *Atriplex*, *Cyanus*, *Pilosella*, *Sagina*, *Senecio* s. l., *Viola*). Má skúsenosti s terénnym výskumom v Alpách, Karpatoch, Panónii, na Balkáne, v Mediteráne, v severnej Európe a východnom Rusku. Bola súčasťou autorského tímu, ktorý bol za publikáciu "Flóra Slovenska VI/1" (2009) ocenený cenou Literárneho fondu a cenou Slovenskej akadémie vied. Cenu Literárneho fondu získala taktiež za spoluautorstvo publikácie "Atlas druhov európskeho významu pre územia NATURA 2000 na Slovensku" (2012). Bola členkou "Špičkového tímu SAV" pod vedením prof. K. Marholda (2013). V rámci predkladaného projektu je zodpovedná za karyologické analýzy (počítanie chromozómov), vyhodnotenie výsledkov morfologických a karyologických analýz a terénny výskum.

RNDr. Jozef Šibík, PhD., spoluriešiteľ

Je odborníkom na vysokohorskú vegetáciu, jej ekológiu a dynamiku. V posledných rokoch bol hlavným riešiteľom projektu zameraného na zisťovanie vplyvu pastvy na vysokohorskú tundru financovaného vládou Spojených štátov. Okrem domácich projektov bol spoluriešiteľom aj viacerých medzinárodných vedeckých projektov (RMNP National Park Service, Nórsky finančný mechanizmus). V roku 2013 získal „post doc“ pozíciu na Colorado State University, nakoľko bol ocenený ročným štipendiom umožňujúcim štúdium rôznych manažmentových modelov využívaných pre potreby ochrany prírody v USA. Je nositeľ Sillingerovej ceny za rok 2005, ktorá je udeľovaná Slovenskou botanickou spoločnosťou pri SAV mladým vedeckým pracovníkom za najlepšiu pôvodnú vedeckú prácu. Ako najmladšiemu držiteľovi mu bola udelená Holubyho pamätná medaila SBS za publikačnú činnosť. V roku 2010 získal čestné uznanie za najlepšiu

vedeckú publikáciu mladých vedeckých pracovníkov do 35 rokov v rámci SAV. Je spoluautorom 4. zväzku série Rastlinné spoločenstvá Slovenska venovaného vysokohorskej vegetácii, ktorého autorský kolektív bol ocenený cenou Literárneho fondu. V rámci projektu je zodpovedný za terénny výskum, vyhodnocovanie ekologických a fytocenologických dát.

Mgr. Zuzana Ballová, spoluriešiteľ

Má skúsenosti v oblasti výskumu habitatových nárokov svišť'a vrchovského tatranského (*Marmota marmota latirostris*) a ním využívaných rastlinných spoločenstiev. Ďalej sa venuje vplyvu svišť'ov na diverzitu alpínskej vegetácie a synergickému vplyvu svišť'ov a veľkých bylinožravcov na vysokohorské ekosystémy. V rámci predkladaného projektu zodpovedá za zber a vyhodnocovanie fytocenologických dát.

Literatúra

- Bělohávková R. (1980): Rostlinná společenstva alpínského stupně Kriváňské Malé Fatry. – Mscr., depon. in Správa NP Malá Fatra, Varín.
- Braun-Blanquet J. (1964): Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde. 3. Aufl. – Springer Verlag, Wien.
- Budzáková M. & Šibík J. (2012): Stanovenie ekologických preferencií druhov *Sesleria albicans* a *Sesleria tatrae* na modelovom území v Belianskych Tatrách (Západné Karpaty). – Studia Oecologica 1: 40–51.
- Budzáková M., Hodálová I., Mered'a P. Jr., Somlyay L., Bisbing S. M. & Šibík J. (2014): Karyological, morphological and ecological differentiation of *Sesleria caerulea* and *S. tatrae* in the Western Carpathians and adjacent regions. – Preslia 86(3):245–277.
- Budzáková M. & Šibík J. (2015): Diversity, variability and habitat characteristics of the communities dominated by *Sesleria* species (Poaceae) in the Western Carpathians. – Plant Biosystems (ahead-of-print): 1–12.
- Deyl M. (1946): Study of the genus *Sesleria*. – Opera Bot. Čech. 3: 1–257.
- Deyl M. (1980): 36. *Sesleria* Scop. – In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M. & Webb D. A. (eds), Flora Europaea, p. 173–177, Cambridge University Press, Cambridge.
- Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – Nat. Protoc. 2: 2233–2244.
- Dúbravcová Z. (2007): *Salicetea herbaceae* Br.-Bl. 1948. – In: Kliment J., Valachovič M. (eds), Rastlinné spoločenstvá Slovenska. 4. Vysokohorská vegetácia. – Veda, Bratislava.
- Kuzmanović N., Šinžar-Sekulić J. & Lakušić D. (2009): Leaf anatomy of the *Sesleria rigida* Heuffel ex Reichenb. (Poaceae) in Serbia. – Bot. Serbica 33: 51–67.
- Kuzmanović N., Comanescu P. & Lakušić D. (2012a): *Sesleria uliginosa* Opiz – A comparative study of leaf anatomical traits. – J. Plant Develop. 19: 3–12.
- Kuzmanović N., Šinžar-Sekulić J. & Lakušić D. (2012b): Ecologically determined variation in leaf anatomical traits of *Sesleria rigida* (Poaceae) in Serbia – multivariate morphometric evidence. – Folia Geobot. 47(1): 41–57.
- Kuzmanović N., Comanescu P., Frajman B., Lazarević M., Paun O., Schönschwetter P. & Lakušić D. (2013): Genetic, cytological and morphological differentiation within the Balkan-Carpathian *Sesleria rigida* sensu Fl. Eur. (Poaceae): A taxonomically intricate tetraploid-octoploid complex. – Taxon. 62: 458–472.
- Lakušić D., Kuzmanović N., Alegro A., Frajman B. & Schönschwetter P. (2013): Molecular phylogeny of the genus *Sesleria* (Poaceae) based on AFLP and plastid DNA. – In: Domina G., Greuter W. & Raimondo F. M. (eds), XIV OPTIMA Meeting, Abstracts, Lectures, Communications, Posters, Orto Botanico, Palermo 9-15 September 2013 [poster].
- Lysák M. A. (1996): Taxonomie a chorologie českých a slovenských druhů rodu *Sesleria*. – MSc. Thesis, Palacky University, Olomouc.

- Lysák M. A., Číhalíková J. & Doležel J. (1997): Morphometric and karyological analysis of a population of *Sesleria sadleriana* Janka in the Biele Karpaty Mountains (Slovakia). – *Folia Geobot. Phytotax.* 32: 47–55.
- 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.
- Murín A. (1960): Substitution of cellophane for glass covers to facilitate preparation of permanent squashes and smears. – *Stain. Technol.* 35: 351–353.
- Podani J. (2001): SYN-TAX 2000. Computer Program for Data Analysis in Ecology and Systematics for Windows 95, 98 & NT. User's manual. – Scientia Publ., Budapest.
- R Development Core Team (2007): R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. – URL: <http://www.R-project.org/> (accessed 3 April 2015).
- SAS Institute Inc. (2007): SAS OnlineDoc®, version 9.1.3. – SAS Institute, Cary, North Carolina, URL: <http://support.sas.com> (accessed 3 April 2015).
- StatSoft Inc. (2014): Statistica, version 8.0. – URL: <http://www.statsoft.com/> (accessed 3 April 2015).
- Strgar V. (1981): Die Sippenstruktur von *Sesleria* auf der Balkanhalbinsel. – *Bot. Jahrb. Syst.* 102: 215–224.
- ter Braak C. J. F. & Šmilauer P. (2002): CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide. Software for canonical community ordination (version 4.5). – Biometris, Wageningen & České Budějovice.
- Tichý L. (2002): JUICE, software for vegetation classification. – *J. Veg. Sci.* 13: 451–453.
- Uhlířová J. (1996): Príspevok k vegetácii reliktných ostrovov Nízkych Tatier. – *Bull. Slov. Bot. Spoločn. Suppl.* 2: 38–43.
- Uhlířová J. (1999): *Festuco tatrae-Pinetum* ass. nova – nová asociácia zväzu *Pulsatillo slavicae-Pinion*. – *Bull. Slov. Bot. Spoločn.* 21: 161–171.
- Ujhelyi J. (1959): Species *Sesleriae* generis novae. – *Feddes Repert. Spec. Nov. Regni Veg.* 62: 59–70.
- Westhoff V. & van der Maarel E. (1978): The Braun-Blanquet approach. – In: Whittaker R. H. (ed.), *Classification of plant communities*, W. Junk, Hague.

Fotografie: P. Mered'a jun.