

Zastosowanie analiz DNA w ustaleniu endemicznego statusu *Cochlearia polonica* i *C. tatrae* (Brassicaceae)

ELŻBIETA CIEŚLAK i MICHAŁ RONIQUIER

CIEŚLAK, E. AND RONIQUIER, M. 2006. Application of DNA studies for elucidation of the endemic status of *Cochlearia polonica* and *C. tatrae* (Brassicaceae). *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica* 13(2): 317–325. Kraków. PL ISSN 1640-629X.

ABSTRACT: Results of recent genetic studies on Central European populations of *Cochlearia* are summarized and discussed in the paper, against the background of existing literature concepts concerning the taxonomical status of several populations of this morphologically poorly resolved genus. Application of molecular markers (AFLPs) and cytological analyses allowed for an unambiguous identification of isolated populations of *Cochlearia* in Ukraine and Slovakia, solving long-lasting controversies on their identity. These results allowed to finally confirm the narrow-endemic status of *C. polonica* and *C. tatrae*, identifying the closest isolated populations of *Cochlearia* outside their restricted geographical range as disjunct *C. pyrenaica*.

KEY WORDS: *Cochlearia polonica*, *C. tatrae*, *C. pyrenaica*, AFLP, chromosome numbers, isolated populations, narrow-endemic species, Poland

E. Cieślak, M. Ronikier, Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, ul. Lubicz 46, PL-31-512 Kraków, Polska; e-mail: elzbieta.cieslak@ib-pan.krakow.pl; michal.ronikier@ib-pan.krakow.pl

WSTĘP

Rodzaj warzucha (*Cochlearia* L., *Brassicaceae*), występujący w Europie, Azji oraz w cyrkumpolarnej części Ameryki Północnej, w Polsce reprezentowany jest przez cztery gatunki należące do sekcji *Cochlearia* (SYCHOWA 1985): *Cochlearia danica* L., *C. officinalis* L., *C. tatrae* Borbás oraz *C. polonica* E. Fröhl. Tylko dwa ostatnie gatunki są stałymi, rodzimymi elementami flory Polski, natomiast pozostałe są jedynie efemerofitami zawlekanymi w strefie polskiego wybrzeża (SYCHOWA 1985). Populacje różnych gatunków warzuchy w Europie środkowej są nieliczne, często niewielkie i izolowane geograficznie. Tworzą one morfologicznie, cytologicznie, genetycznie i ekologicznie zróżnicowany kompleks obejmujący m.in. *Cochlearia pyrenaica* DC. ($2n = 12$), *C. polonica* Fröhl. ($2n = 36$), *C. tatrae* Borb. ($2n = 42$), *C. borzaeana* (Com. & Nyár.) Pobed. ($2n = 48$) (KOCH i in. 2003).

Skomplikowany i niejednoznaczny obraz zmienności morfologicznej w tej grupie spowodował funkcjonowanie w literaturze rozbieżnych opinii na temat przynależności taksonomicznej niektórych populacji (por. rozdział „Wyniki i dyskusja”). Rozbieżności te mają szczególne znaczenie w przypadku taksonów endemicznych o bardzo ograniczonym

zasięgu. W ramach prac nad genetycznym zróżnicowaniem rodzaju *Cochlearia* w Europie Środkowej (CIEŚLAK i in. 2006b; Cieślak & Ronikier, dane niepubl.) podjęto m.in. próbę jednoznacznego rozstrzygnięcia przynależności taksonomicznej izolowanych populacji *Cochlearia* w Polsce i krajach ościennych oraz – co za tym idzie – rozmieszczenia i statusu endemicznego dwóch rodzimych przedstawicieli rodzaju: *C. polonica* i *C. tatrae*. Niejasności dotyczące izolowanych populacji *Cochlearia* były pomijane w większości nowych publikacji dotyczących obydwu endemitów (np. BARYŁA 2001, 2005; KWIATKOWSKA 2001; KAŻMIERCZAKOWA 2004), pomimo że problemy te nie zostały nigdy ostatecznie rozstrzygnięte i podsumowane. Ponieważ jest to zagadnienie bardzo istotne dla wiedzy o endemicznych elementach flory Polski, w niniejszej pracy przeprowadzono analizę historycznych danych literaturowych i zielnikowych oraz skonfrontowano je z rozproszonymi w kilku pracach danymi cytologicznymi i genetycznymi, uzyskanymi w ciągu kilku ostatnich lat.

MATERIAŁ I METODY

Materiał uwzględniony w niniejszej analizie obejmował próby z populacji *Cochlearia polonica* (Wyżyna Śląsko-Krakowska), *C. pyrenaica* (Alpy), *C. tatrae* (Tatry) oraz z dwóch problematycznych populacji *Cochlearia* ze Słowacji (Wielka Fatra) oraz z Ukrainy (źródła Bugu). W sumie, badaniami objęto czterdzieści dziewięć prób pochodzących z siedmiu populacji (Tab. 1). W całościowych badaniach uwzględniono dodatkowo populacje pozostałych gatunków środkowoeuropejskich *C. borzaeana*, *C. excelsa* i *C. macrorhiza* (Cieślak & Ronikier, dane niepubl.)

Analizy genetycznego pokrewieństwa populacji oraz ich zmienności genetycznej przeprowadzono z wykorzystaniem metody AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), pozwalającej na uzyskanie dużej liczby neutralnych markerów DNA z przestrzeni całego DNA genomowego (Vos i in. 1995). Całkowity DNA genomowy trawiono dwoma enzymami restrykcyjnymi: *EcoRI* i *MseI* (New England Biolabs), a w finalnej amplifikacji PCR (PCR selektywny) wykorzystano następujące pary starterów: *EcoRI*-AAG/*MseI*-CTA, *EcoRI*-ACT/*MseI*-CAC, *EcoRI*-AGC/*MseI*-CTA. Znakowane fluorescencyjnie

Tabela 1. Wykaz populacji analizowanych w badaniach genetycznych (wg CIEŚLAK i in. 2006b)
Table 1. List of populations used in the study of genetic relationships (cf. CIEŚLAK *et al.* 2006b)

Nr No.	Gatunek Species	Stanowisko, osoba zbierająca Locality, collector	Wsp. geogr. Geogr. coord.	L. prób No of samples
1	<i>Cochlearia polonica</i>	Źródlika Centurii koło Olkusza (PL), leg. Cieślak	N 50°25' E 19°29'	7
2	<i>C. pyrenaica</i> (* <i>C. polonica</i> ')	Okolice Wierchobuza (UA), leg. Cieślak	N 49°51' E 25°06'	8
3	<i>C. pyrenaica</i>	Türnitz, Lower Austria (A), leg. Koch	N 47°53' E 15°28'	5
4	<i>C. pyrenaica</i>	Niederapl, Lower Austria (A), leg. Koch	N 47°40' E 15°24'	5
5	<i>C. pyrenaica</i>	Bukovinka, Vel'ka Fatra (SK), leg. Ronikier	N 49°00' E 19°17'	7
6	<i>C. tatrae</i>	Čierna Javorova Dolina, Tatry (SK), leg. Ronikier	N 49°12' E 20°11'	8
7	<i>C. tatrae</i>	Kocioł Miękuszwowiecki (Bandzioch), Tatry (PL), leg. Cieślak	N 49°10' E 20°04'	9

produkty selektywnego PCR rozdzielano w polimerze POP 4, ze standardem masowym GeneScan-500 (ROX), w sekwencjonerze automatycznym ABI Prism 3100-Avant (Applied Biosystems). Szczegółowy opis zastosowanej metodyki, uzyskanych liczb fragmentów DNA oraz metod analizy uzyskanych danych zawarto w pracy CIEŚLAK i in. (2006b).

WYNIKI I DYSKUSJA

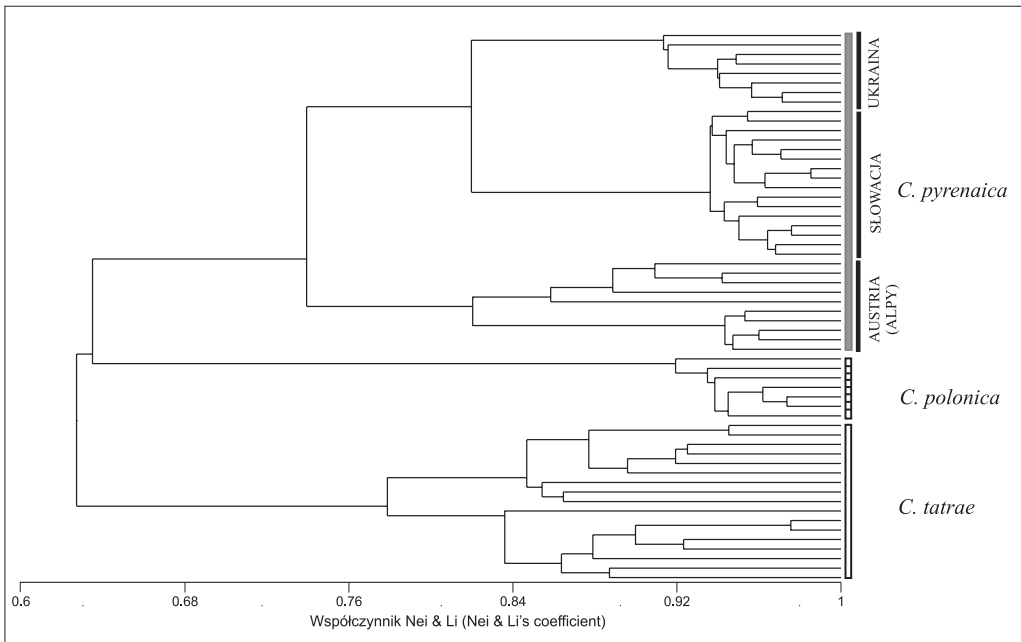
Cochlearia polonica

Cochlearia polonica E. Fröhl. należy do najrzadszych gatunków we florze Polski i Europy. Znalazło to odzwierciedlenie m.in. w uwzględnieniu tego gatunku w światowych i europejskich dokumentach dotyczących ochrony bioróżnorodności, np. w światowej czerwonej liście IUCN (WALTER & GILLET 1998), I Aneksie do Konwencji o ochronie gatunków dzikiej flory i fauny europejskiej oraz ich siedlisk (tzw. Konwencji Berneńskiej; Dz.U. 58/1996, poz. 263), czy II i IV Aneksach do Europejskiej Dyrektywy Siedliskowej (Habitatowej) (92/43/EEC).

Obecnie nie istnieją już naturalne stanowiska warzuchy polskiej (KWIATKOWSKA 2001; KAŻMIERCZAKOWA 2004). Gatunek utrzymuje się jedynie w jednej obfitej populacji reintrodukowanej w źródłiskach Centurii k. Olkusza (Wyżyna Śląsko-Krakowska) oraz w dwóch bardzo niewielkich populacjach pochodnych. Historię prób ochrony warzuchy polskiej oraz reintrodukcji gatunku na zastępcze stanowiska opisali szczegółowo KWIATKOWSKA (2001), KAŻMIERCZAKOWA (2004), ostatnio również BARYŁA (2005). Liczebność populacji w dolinie Centurii szacowana była w ostatnich latach na ok. 30 tysięcy osobników (KWIATKOWSKA 2001).

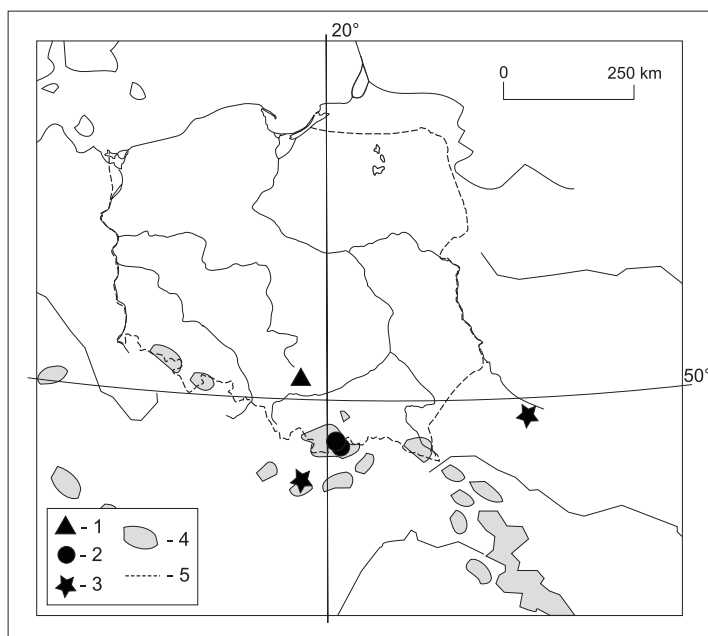
Pierwsze doniesienie o występowaniu warzuchy na obszarze Polski podał ZALEWSKI (1886) w spisie gatunków z Królestwa Polskiego i z Karpat, gdzie umieścił go pod nazwą *Cochlearia officinalis* L. z bardzo ogólnym opisem zbioru miejsca (Olkusz stary, nad wykopem). O kolejnym stanowisku warzuchy, na dnie doliny i w korycie dopływów rzeki Białej, doniósł PIECH (1924), który ujął ją jako *Cochlearia officinalis* L. subsp. *pyrenaica* (DC.) Rouy & Fouc. Dodatkowo, w przypisach wskazał źródłiska jeziora „Biała Karczma”, oddalonego na S od źródeł rzeki Białej, jako kolejne stanowisko gatunku. KULCZYŃSKI (1927) w pierwszym wydaniu Flory polskiej podał ten gatunek jako *Cochlearia pyrenaica* DC. var. *eupyrenaica* Thell., a miejsce jej występowania określił jako Olkusz. Na dnie potoków w pustyni Błędowskiej”. Dopiero FRÖHLICH (1936) nadał roślinom ze źródeł rzeki Białej rangę odrębnego gatunku, pod nazwą *Cochlearia polonica*. Przeprowadzone przez tego autora szczegółowe badania systematyczne oparte na analizie zmienności morfologicznej gatunków rodzaju *Cochlearia* z Polski oraz pokrewnych występujących w innych częściach Europy potwierdziły, że *C. polonica* pod względem morfologicznym odróżnia się zarówno od *C. officinalis*, jak i *C. pyrenaica* (FRÖHLICH 1937). FRÖHLICH (1936) stwierdził również, że podawane pod innymi nazwami okazy ze stanowisk w okolicach Olkusza należą do *C. polonica*. Od tego czasu gatunek ten był uważany za endemit Polski, ograniczony w swoim występowaniu do wspomnianego niewielkiego obszaru (por. BARYŁA 2005). Odrębność gatunkową populacji ze źródłiska rzeki Białej przedyskutował także BAJER (1950), który podał dla tego gatunku heksaploidalną liczbę chromosomów $2n = 36$.

Odrębne, odległe niżowe stanowisko *Cochlearia* na obszarze ówczesnej Polski podał w krótkim komunikacie TYMRAKIEWICZ (1930) opisując stanowisko warzuchy, ujętej jako *Cochlearia pyrenaica*, w widłach potoków zasilających Bug w okolicach Wierchobuża (dzisiejsza Ukraina). Bogaty zbiór zielnikowy z tego stanowiska znajduje się w zielniku KRAM i w zielniku prof. Mądalskiego w IB PAN w Krakowie. Na kilku etykietach z tego zbioru znajduje się notatka autorstwa Fröhlicha z jednoznacznym stwierdzeniem, że rośliny te wykazują podobieństwo do okazów z zachodniej Europy (a więc *C. pyrenaica*). Podobnie traktuje izolowaną populację ukraińską VOGT (1985) w monografii poświęconej rodzajowi *Cochlearia* w Europie Środkowej. Z drugiej strony, POBEDIMOWA (1970) w opracowaniu rodzaju *Cochlearia* L. w Europie zakwestionowała oznaczenie przez Mądalskiego okazu nr 227, 1934 r. z Wierchobuża jako *C. pyrenaica*, opowiadając się, na podstawie analiz morfologicznych i ekologicznych, za przynależnością tej populacji do *C. polonica*. Pogląd ten zakorzenił się w literaturze ukraińskiej i utrzymuje się we współczesnych opracowaniach badaczy ukraińskich (np. KOTOV 1979; PROKUDIN 1987; SHEL'YAG-SOSONKA 1996). Również we Florze Polski (SYCHOWA 1985), przy opisie rozmieszczenia *C. polonica*, obok stanowiska z okolic Olkusa podano to że źródeł Bugu z jednoznaczną adnotacją, że traktowanie tego gatunku jako endemicznego dla obszaru Polski jest niewłaściwe. Brak szczegółowych badań uwzględniających materiał z ukraińskiej populacji utrudniał jednoznaczne ustalenie jej statusu taksonomicznego i problem ten nie został w sposób definitywny rozstrzygnięty.



Ryc. 1. Dendrogram podobieństwa uzyskany metodą UPGMA (współczynnik Nei & Li) przedstawiający relacje genetyczne wszystkich badanych populacji i osobników. Dokładny opis lokalizacji populacji uwzględnionych w pracy podano w Tabeli 1

Fig. 1. The UPGMA tree (based on Nei and Li's coefficient), presenting relationships of all populations and individuals studied. Precise identity of populations used in the study are given in Table 1



Ryc. 2. Mapa rozmieszczenia populacji *Cochlearia* w Polsce i obszarach przylegających, w świetle rozstrzygnięć przyjętych w wyniku badań genetycznych i cytologicznych. 1 – *C. polonica*; 2 – *C. tatrae* (zaznaczono dwie populacje bezpośrednio wspomniane w niniejszej pracy; całkowity zasięg *C. tatrae* obejmuje całość Tatr); 3 – *C. pyrenaica*; 4 – wyższe obszary górskie; 5 – zarys granic Polski

Fig. 2. Distribution map of *Cochlearia* populations in Poland and adjacent areas, according to recent genetic and cytological studies. 1 – *C. polonica*; 2 – *C. tatrae* (dots for two populations directly analysed in the text are given; the distribution of *C. tatrae* encompasses the whole area of the Tatra Mts.); 3 – *C. pyrenaica*; 4 – higher mountainous areas; 5 – outline of the Polish borders

Genetyczna analiza prób *C. polonica* ze źródeł Centurii oraz z ukraińskiej populacji *Cochlearia* w kontekście wybranych populacji pozostałych gatunków środkowoeuropejskich (CIEŚLAK i in. 2006b) wykazała wyraźną odrębność genetyczną *C. polonica*, która tworzy gatunkowo specyficzne skupienie w analizie podobieństwa (Ryc. 1). Równocześnie stwierdzono, że warzucha z populacji ukraińskiej wykazuje wyraźne podobieństwo genetyczne do *C. pyrenaica* (Ryc. 1). Relacje podobieństwa DNA potwierdziła analiza cytologiczna – rośliny te charakteryzowały się diploidalną liczbą chromosomów $2n = 12$, właściwą dla *C. pyrenaica* (CIEŚLAK i in. 2006b; KOCHJAROVÁ i in. 2006). Wyniki te wskazują na słuszność poglądu VOGTA (1985) na tę populację i jednoznacznie obalają ujęcie przyjęte za POBEDIMOWĄ (1970) w literaturze ukraińskiej, a także we Florze Polski (SYCHOWA 1985).

Badania te pozwalają na jednoznaczne potwierdzenie statusu *Cochlearia polonica* jako gatunku endemicznego ograniczonego w swoim naturalnym (historycznym) zasięgu do niewielkiego fragmentu Wyżyny Śląsko-Krakowskiej w okolicach Olkusza (Ryc. 2). W konsekwencji tego również, reintrodukowana populacja w źródłiskach Centurii stanowi współcześnie jedyną stosunkowo stabilną ostoję gatunku i zabezpieczenie jego puli genetycznej. Niezwykle istotne jest więc objęcie całej populacji zabiegami ochronnymi. Analiza struktury genetycznej wykazała stosunkowo niski poziom zmienności genetycznej w tej populacji

oraz jej nielosowy rozkład przestrzenny w populacji (CIEŚLAK i in. 2006a; CIEŚLAK i in., złożone). W związku z taką sytuacją, wymieranie osobników w poszczególnych częściach populacji może powodować nieodwracalne straty w puli genowej całego gatunku.

Cochlearia tatrae

Drugi gatunek rodzaju *Cochlearia* występujący naturalnie w Polsce, *Cochlearia tatrae* Borbás, występuje w wysokich partiach Tatr, przy czym w polskiej części jest stosunkowo rzadki i podawany z kilku stanowisk w masywie Mięguszwieckich Szczytów. Więcej i bardziej obfitych stanowisk tego gatunku znajduje się po słowackiej stronie Tatr (PAWŁOWSKI 1956). Liczebność tych izolowanych populacji jest różna, najczęściej dochodzi do kilkudziesięciu generatywnych osobników (BARYŁA 2001; MIREK 2004); największe populacje znajdują się w Bandziochu Mięguszwieckim po polskiej stronie i w szczytowych partiach Łomnicy po stronie słowackiej (Ronikier, obs. własne). W odróżnieniu od większości gatunków *Cochlearia* warzucha tatrzańska należy do flory wysokogórskiej (podobnym wyjątkiem jest tylko alpejska *C. excelsa* Frisch) i jej optimum ekologiczne obejmuje piętra alpejskie i subniwalne (PAWŁOWSKI 1956; PACLOVÁ 1977; PIĘKOŚ-MIRKOWA i in. 1996).

Jako gatunek endemiczny o bardzo małym zasięgu *Cochlearia tatrae* została uwzględniona w takich dokumentach, jak II i IV Aneksy do Europejskiej Dyrektywy Siedliskowej (Habitatowej) (92/43/EEC).

Cochlearia tatrae traktowana jest w różnych opracowaniach jako endemit zachodniokarpacki (subendemit tatrzański; np. BARYŁA 2001) lub gatunek endemiczny ograniczony do Tatr (np. MIREK 2004). Niejednoznaczność statusu tego taksonu związana była z notowaniami kilku populacji warzuchy w słowackich Karpatach Zachodnich poza Tatrami (por. VALACHOVIČ & KOCHJAROVÁ 2000), przede wszystkim na izolowanych stanowiskach w Słowackim Raju i u podnóży Wielkiej Fatry (DOSTÁL 1989). Jedynymi współcześnie odnalezionymi z tych populacji są dwa niewielkie skupiska w dolinie Revucy u podnóży Wielkiej Fatry (VALACHOVIČ & KOCHJAROVÁ 2000; Ronikier, obs. własne). VALACHOVIČ & KOCHJAROVÁ (2000) określili liczbę chromosomów u roślin z tej populacji jako $2n = 12$ i zidentyfikowali je na tej podstawie jako *C. pyrenaica*; badania te uwzględnił już MIREK (2004) podając dla *C. tatrae* właściwy status endemitu tatrzańskiego (Ryc. 2). Obserwacje te znalazły potwierdzenie również w analizie genetycznej, która wykazała grupowanie się osobników z tej populacji w obrębie *C. pyrenaica* (CIEŚLAK i in. 2006b). „Wschodnie” populacje *C. pyrenaica* (Słowacja i Ukraina) są bardzo zbliżone genetycznie do siebie i wyraźnie oddzielają się od populacji „zachodnich” (Alpy) (Ryc. 1). To bardzo interesujące genetyczne zróżnicowanie w obrębie *C. pyrenaica* może świadczyć raczej o istnieniu izolowanych stanowisk tego gatunku już w peryglacialnej strefie na południe od lądolodu podczas ostatniego zlodowacenia, niż o niedawnym, postglacialnym rozprzestrzenianiu się gatunku (CIEŚLAK i in. 2006b). Trendy zmienności *C. pyrenaica* i *C. tatrae* obserwowanej w analizie PCO przemawiają również za udziałem „wschodniej” linii *C. pyrenaica* w genezie poliploidalnego taksonu *C. tatrae* (Cieślak & Ronikier, dane niepubl.) Potwierdzałyby to hipotezę o udziale *C. pyrenaica* w powstaniu tego endemicznego, wysokogórskiego gatunku (KOCH i in. 1996).

Więcej wiadomości na ten temat przyniesie zaplanowana całościowa analiza filogeograficzna *Cochlearia pyrenaica* oraz szczegółowe badania jej relacji z izolowanymi gatunkami poliploidalnymi, w których powstaniu brała udział przypuszczalnie *C. pyrenaica*.

Podziękowania. Autorzy dziękują M. Kochowi (Heidelberg, Niemcy) za udostępnienie porównawczych materiałów *Cochlearia pyrenaica* i *C. excelsa* z Alp i współpracę w badaniach nad rodzajem *Cochlearia*; prof. Z. Mirkowi i dr W. Paulowi za krytyczne uwagi do manuskryptu. Badania wykonano w ramach grantu MNII nr 3 P04G 007 24. Michał Ronikier składa podziękowania za stypendium Fundacji na rzecz Nauki Polskiej dla młodych naukowców (2003–2004), w czasie którego prowadzone były niniejsze prace.

LITERATURA

- BAJER A. 1950. Cytological studies on *Cochlearia polonica* Fröhl. – Acta Soc. Bot. Pol. **22**: 635–646.
- BARYŁA J. 2001. *Cochlearia tatrae* Borbás, Warzucha tatrzańska. – W: R. KAŹMIERCZAKOWA & K. ZARZYCKI (red.), Polska czerwona księga roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe, s. 168–170. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Instytut Ochrony Przyrody, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- BARYŁA J. 2005. Warzucha polska – *Cochlearia polonica* E. Fröhlich, uwagi taksonomiczne, siedliska i problemy ochrony – W: J. PARTYKA (red.), Zróżnicowanie i przemiany środowiska przyrodniczo-kulturowego Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej. Suplement **3**, s. 35–40, Ojców.
- CIEŚLAK E., KORBECKA G. & RONIKIER M. Genetic structure of the critically endangered *Cochlearia polonica*: efficiency of the last-chance transplantation. Bot. J. Linn. Soc., złożone.
- CIEŚLAK E., KORBECKA G., RONIKIER M. & SZCZEPANIAK M. 2006a. Szczegółowa analiza struktury genetycznej w reintrodukowanej populacji endemicznej *Cochlearia polonica* E. Fröhl. – implikacje dla ochrony gatunku. – W: Z. MIREK, E. CIEŚLAK, B. PASZKO, W. PAUL, M. RONIKIER (red.), Materiały ogólnopolskiej konferencji naukowej „Rzadkie, ginące i reliktowe gatunki roślin i grzybów – problemy zagrożenia i ochrony różnorodności flory Polski”, Kraków, 30–31.05.2006. s. 56.
- CIEŚLAK E., RONIKIER M. & KOCH M. 2006b. Western Ukrainian *Cochlearia* (*Brassicaceae*): identity of an isolated edge population. – Taxon (w druku).
- DOSTÁL J. 1989. Nová květena ČSSR. **1**. s. 329. Academia, Praha.
- FRÖHLICH E. 1936. *Cochlearia polonica* E. Fröhlich (*n. sp.*) – Warzucha polska. – W: Rośliny polskie, seria II, setka III: 11. Plantae poloniae exsiccatae, series II, centuria III: 11, s. 28. Wydane przez Instytut i Ogród Botaniczny UJ staraniem W. Szafera i B. Pawłowskiego, Kraków.
- FRÖHLICH E. 1937. Studia systematyczne nad polskimi warzuchami (*Cochlearia* L.) z uwzględnieniem innych spokrewnionych z nimi gatunków europejskich. – Bull. Intern. Acad. Pol. Sci. Lettr., Cl. Math.-Nat. **6-7**, B I: 129–146.
- KAŹMIERCZAKOWA R. 2004. *Cochlearia polonica* E. Fröhlich, Warzucha polska. – W: B. SUDNIK-WÓJCIKOWSKA & H. WERBLAN-JAKUBIEC (red.), Gatunki roślin. Poradnik ochrony siedlisk i gatunków Natura 2000 – podręcznik metodyczny. **9**: 100–103, Ministerstwo Środowiska, Warszawa.
- KOCH M., HURKA H. & MUMMENHOFF K. 1996. Chloroplast DNA restriction site variation and RAPD-analyses in *Cochlearia* (*Brassicaceae*): Biosystematics and speciation. – Nordic J. Bot. **16**: 585–603.
- KOCH M., DOBEŠ C., BERNHARDT K. G. & KOCHJAROVÁ J. 2003. *Cochlearia macrorrhiza* (*Brassicaceae*): A bridging species between *Cochlearia* taxa from the Eastern Alps and the Carpathians? – Pl. Syst. Evol. **242**: 137–147.
- KOCHJAROVÁ J., VALACHOVIČ M., BUREŠ P. & MRÁZ P. 2006. The genus *Cochlearia* L. (*Brassicaceae*) in the Eastern Carpathians and adjacent area. – Bot. J. Linn. Soc. **151**: 355–364.

- KOTOV M. I. 1979. *Cochlearia*. – W: A. A. FEDOROV (red.), Flora Partis Europaeae URSS. **4**, s. 105–108 Leningrad, Nauka.
- KULCZYŃSKI S. 1927. *Cochlearia* L., Warzucha – W: W. SZAFER (red.), Flora polska. Rośliny naczyniowe Polski i ziem ościennych. **3**, s. 109–110. Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności, Kraków.
- KWIATKOWSKA A. 2001. *Cochlearia polonica* Fröhlich, Warzucha polska. – W: R. KAŻMIERCZAKOWA & K. ZARZYCKI (red.), Polska czerwona księga roślin. Paprotniki i rośliny kwiatowe, s. 166–167. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Instytut Ochrony Przyrody, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- MIREK Z. 2004. *Cochlearia tatrae* Borbás, Warzucha tatrzańska. – W: B. SUDNIK-WÓJCIKOWSKA & H. WERBLAN-JAKUBIEC (red.), Gatunki roślin. Poradnik ochrony siedlisk i gatunków Natura 2000 – podręcznik metodyczny. **9**: 104–106, Ministerstwo Środowiska, Warszawa.
- PACLOVÁ L. 1977. Rastlinstvo subniválneho stupňa Vysokých Tatier. – Zbornik Prác o Tatranskom Národnom Parku **19**: 169–256.
- PAWŁOWSKI B. 1956. Flora Tatr. Rośliny naczyniowe. **1**. s. 322. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- PIECH K. 1924. *Doronicum austriacum* Jacq. i *Cochlearia officinalis* L. w okolicy Olkusza. – Acta Soc. Bot. Pol. **2**: 216–221.
- PIĘKOŚ-MIRKOWA H., MIREK Z. & MIECHÓWKA A. 1996. Endemic vascular plants in the Polish Tatra Mts. Distribution and ecology. – Polish Bot. Stud. **12**: 1–107.
- POBEDIMOVA E. 1970. Obzor roda *Cochlearia* L., 2 [Revisio generis *Cochlearia* L., 2]. – Novosti Sistematiki Vysshikh Rasteniy **6** (1969): 67–106.
- PROKUDIN N. J. 1987. Opredelitel' vysshikh rasteniy Ukrainy. Naukova Dumka, Kiev.
- SYCHOWA M. 1985. *Cochlearia* L., Warzucha – W: A. JASIEWICZ (red.), Flora Polski. Rośliny Naczyniowe. **4**, s. 231–234. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa – Kraków.
- SHELYAG-SOSONKA YU. R. 1996. Chervona Kniga Ukrayini. Roslinnyy Svit. s. 95. Vidavnicтво ukrayins'ka entsiklopediya imeni M. T. Bazhana, Kiyiv.
- TYMRAKIEWICZ W. 1930. Reliktowe stanowisko warzuchy pirenejskiej *Cochlearia pyrenaica* D.C. var. *eupyrenaica* Thell. u źródel Bugu. – Kosmos Ser. A **55**: 732–733.
- VALACHOVIČ M. & KOCHJAROVÁ J. 2000. *Cochlearia pyrenaica* – nový druh v Západných Karpatoch. – Preslia **72**: 475–492.
- VOGT R. 1985. Die *Cochlearia pyrenaica*-Gruppe in Zentraleuropa. – Berichte der Bayerische Botanische Gesellschaft **56**: 5–52.
- VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., REIJNS M., VAN DE LEE T., HORNES M., FRIJTERS A., POT J., PELEMAN J., KUIPER M. & ZABEAU M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. – Nucl. Acids Res. **23**(21): 4407–4414.
- WALTER K. S. & GILLETT H. J. (red.), 1998. 1997 IUCN Red List of Threatened Plants. Compiled by the World Conservation Monitoring Centre. IUCN – The World Conservation Union, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, s. xiv + 862.
- ZALEWSKI A. 1886. Zapiski roślinne z Królestwa Polskiego i Karpat. – Spraw. Komis. Fizyogr. **20**: 171–190.

SUMMARY

Four species represent the genus *Cochlearia* L. in Poland: *Cochlearia danica* L., *C. officinalis* L., *C. polonica* E. Fröhl. and *C. tatrae* Borbás; only two latter taxa belong to the native flora of the country and at the same time are counted among the rarest plant species in Poland and in Europe. Extensive studies of

relationships within the genus *Cochlearia* in Central Europe carried out by various authors have revealed the general phylogenetic and biogeographical variation. However, disjunct and isolated distributions of most of the species in Central Europe, in addition to the wide and poorly defined morphological variability, still require further studies to understand local patterns of diversity and unambiguously define the distribution of particular taxa. This is especially important in the case of taxa with restricted distributions (endemics). Both *Cochlearia polonica* and *C. tatrae* have a status of local endemics, but there were controversial identifications of disjunct, isolated populations outside their respective main occurrence areas, making their exact endemic status unclear. This confusion has recently been solved by parallel genetic and cytological fine-scale studies carried out in Poland (E. Cieślak & M. Ronikier) and Slovakia (J. Kochjarová & M. Valachovič), which are summarized in the present paper. Studies of genetic relationships of selected populations of *Cochlearia* in Poland and adjacent areas (Table 1) showed the affinity of isolated population of *Cochlearia* in Ukraine (treated by some authors as *C. polonica*) and in Slovak Western Carpathians outside the Tatras (treated by some authors as *C. tatrae*) to *C. pyrenaica*. Cytological studies also revealed the diploid chromosome numbers ($2n = 12$) for plants from these populations, characteristic for *C. pyrenaica*. The unambiguous identification of these populations as disjunct and isolated occurrences of *C. pyrenaica* allows a final confirmation of the narrow-endemic status of *C. polonica* (endemic of S Poland) and *C. tatrae* (endemic of the Tatra Mts. in Poland and Slovakia) (Figs 1, 2).

Przyjęto do druku: 14.07.2006 r.