

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Bakalářská práce

Karyologická a morfologická studie vybraných populací okruhu

Dactylorhiza maculata

Karyological and morphological study of selected populations of *Dactylorhiza maculata* group

Vojtěch Taraška

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Forma studia: prezenční

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.

Konzultant: Petr Batoušek

Olomouc 2012

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

V Olomouci dne 27.7.2012

.....

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval všem, bez jejichž pomoci by tato práce vznikla jen stěží. Především musím poděkovat svému vedoucímu Bohumilu Trávníčkovi za odborné vedení, rady a trpělivost, s níž bojoval s mým dlouhým vedením, a také za to, že mi umožnil pracovat na tématu týkajícím se mých milovaných orchidejí. Velice děkuji panu Petru Batouškovi za to, že se se mnou podělil o své znalosti a zkušenosti a dělal mi výborného průvodce po lokalitách. Míše Jandové děkuji za hodiny času a hektolitry nervů, jež jí vytekly u toho pekelného přístroje, který však vždy dokázala bravurně zkrotit. Děkuji paní RNDr. Anně Krauhulcové z Botanického ústavu AV ČR za odbornou pomoc při zhotovování roztlakových preparátů. Děkuji také panu RNDr. Martinu Duchoslavovi, Ph.D., který navždy změnil můj pohled na pravděpodobnost, vysvětlil mi, že „medián“ není sprosté slovo, a i jinak mi pomohl se zvládnutím statistiky. Dále patří můj dík Petře Šarhanové za technickou podporu při cytometrování a Václavu Dvořákovi za pomoc v boji s paragrafy. Rovněž děkuji panu Mgr. Petru Chytilovi z CHKO Beskydy a paní RNDr. Ivaně Jongepierové z CHKO Bílé Karpaty, díky nimž se boj s paragrafy proměnil v přínosnou komunikaci. Thank you, Ondra, for your corrections of English abstract. Všem Kolegům děkuji za vytvoření příjemného studijního (a případně i bytového) kolektivu. Na závěr, avšak v neposlední řadě, děkuji své rodině za její korekce (nejen ty literární) a za podporu ve studiu i v mých zálibách.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Vojtěch Taraška

Název práce: Karyologická a morfologická studie vybraných populací okruhu *Dactylorhiza maculata*

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.

Rok obhajoby: 2012

Abstrakt:

Tato práce se zaměřuje na popsání variability populací označovaných v literatuře jako *Dactylorhiza maculata* subsp. *transsilvanica* na Moravě a v přilehlé části Slovenska. Šest populací tohoto taxonu bylo studováno z hlediska morfologické a karyologické variability. Metodou průtokové cytometrie nebyla zjištěna žádná cytotypová variabilita mezi populacemi a jejich obsah DNA odpovídal tetraploidnímu stavu $2n = 80$. Studované populace byly podrobeny rovněž morfometrické analýze. U většiny morfologických znaků byla prokázána statisticky signifikantní odlišnost mezi některými populacemi. V nejvíce znacích se odlišovala populace na lokalitě Abrod (Záhorská nížina). Dále byly zjišťovány rozdíly mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii* v pohoří Moravskoslezské Beskydy. Obsah DNA zjištěný metodou průtokové cytometrie se u všech populací shodoval a odpovídal tetraploidnímu stavu $2n = 80$. Tento počet chromosomů byl u jedné rostliny potvrzen metodou roztlačových preparátů nezralých prašníků. Většina rozlišovacích morfologických znaků uváděných v literatuře neposkytovala signifikantní výsledek. Mezi některými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byly zjištěny větší rozdíly, než mezi oběma studovanými taxony v oblasti Moravskoslezských Beskyd. Na základě těchto poznatků byly navrženy změny v taxonomii okruhu *D. maculata*.

Klíčová slova: *Dactylorhiza maculata* agg., *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, *D. fuchsii*, průtoková cytometrie, polyploidie, morfometrika, smíšené populace

Počet stran: 84

Počet příloh: 4

Jazyk: český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname: Vojtěch Taraška

Title: Karyological and morphological study of selected populations of *Dactylorhiza maculata* group.

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc

Supervisor: Doc. RNDr. Bohumil Trávníček, Ph.D.

The year of presentation: 2012

Abstract:

This thesis is focused on describing variability of populations in literature mentioned as *Dactylorhiza maculata* subsp. *transsilvanica* in Moravia and adjacent part of Slovakia. Six populations of this taxon were studied in terms of morphological and karyological variability. No cytotype variability among populations was discovered by the method of flow cytometry. Their DNA content was in accordance with those of tetraploids $2n = 80$. A morphological analysis of the studied populations was accomplished. Statistically significant differences between some populations were found in most morphological characteristics. The most distinguishing characteristics were observed in the population in the locality Abrod (Záhorská nížina lowland). Differences were investigated also between the populations of *D. maculata* subsp. *transsilvanica* and *D. fuchsii* in the Moravian-Silesian Beskids. DNA content observed by the method of flow cytometry was equal and was in accordance with those of tetraploids $2n = 80$. This chromosome number was confirmed for one specimen by the method of preparation of immature anthers squash. Most of the morphological characteristics, that should be distinguishing according to the literature, did not give significant results. More significant differences were found between some populations mentioned as *D. maculata* subsp. *transsilvanica* than between both studied taxa in the Moravian-Silesian Beskids area. On the basis of those knowledge, changes were suggested in taxonomy of the *D. maculata* group.

Keywords: *Dactylorhiza maculata* agg., *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, *D. fuchsii*, flow cytometry, polyploidy, morphometrics, mixed populations

Number of pages: 84

Number of appendices: 4

Language: Czech

OBSAH

1. ÚVOD.....	8
1.1 Literární přehled	8
1.1.1 Rod <i>Dactylorhiza</i>	8
1.1.2 <i>Dactylorhiza maculata</i> agg. v Evropě.....	8
1.1.3 <i>Dactylorhiza maculata</i> agg. v České republice	10
1.1.4 Charakteristika studovaných taxonů	12
1.1.4.1 <i>Dactylorhiza maculata</i> s. str. a <i>D. fuchsii</i>	12
1.1.4.2 <i>Dactylorhiza maculata</i> subsp. <i>transsilvanica</i>	16
1.2 Cíle práce.....	18
2. MATERIÁL A METODIKA.....	19
2.1 Rostlinný materiál.....	19
2.2 Karyologické studium.....	19
2.2.1 Stanovení počtu chromosomů.....	20
2.2.2 Stanovení ploidie	20
2.3 Morfometrické studium.....	21
2.3.1 Sběr dat.....	21
2.3.2 Statistické zpracování dat	24
3. VÝSLEDKY	26
3.1 Karyologické studium.....	26
3.1.1 Stanovení počtu chromosomů.....	26
3.1.2 Stanovení ploidie	26
3.2. Morfometrické studium.....	28
3.2.1 Výška.....	30
3.2.2 Počet listů	32
3.2.3 Délka prvního listu.....	33
3.2.4 Šířka prvního listu	34
3.2.5 Úhel prvního listu.....	36
3.2.6 Délka druhého listu	37
3.2.7 Šířka druhého listu	39
3.2.8 Úhel druhého listu	40
3.2.9 Výška / počet listů.....	42
3.2.10 Index výška / délka prvního listu	43

3.2.11 Index výška / délka druhého listu	45
3.2.12 Index délka / šířka prvního listu.....	46
3.2.13 Index délka / šířka druhého listu.....	48
3.2.14 Index délka druhého listu / vzdálenost nejširšího místa druhého listu od báze tohoto listu (délka druhého listu / M)	49
3.2.15 Délka pysku (hodnota A).....	51
3.2.16 Šířka pysku (hodnota F)	52
3.2.17 Heslop-Harisonův index (2A) / (B+C).....	53
3.2.18 Index délky středního úkrojků pysku (A/D).....	55
3.2.19 Index šířky středního úkrojků pysku (F/E).....	56
3.2.20 Index hloubky zářezu pysku B / (B-C).....	58
3.3 Fenetická analýza.....	61
4. DISKUZE.....	65
4.1. Karyologické studium.....	65
4.2. Morfometrické studium.....	66
4.2.2 Srovnání populací <i>D. maculata</i> subsp. <i>transsilvanica</i>	67
4.2.3 Srovnání taxonů <i>D. fuchsii</i> a <i>D. maculata</i> subsp. <i>transsilvanica</i>	73
4.3 Důsledky pro taxonomické pojetí studovaných populací	76
5. ZÁVĚR	79
6. LITERATURA.....	80

1. ÚVOD

1.1 Literární přehled

1.1.1 Rod *Dactylorhiza*

Rod *Dactylorhiza* Necker ex Nevski patří do čeledi *Orchidaceae*, podčeledi *Orchidoideae* a tribu *Orchidinae* (Průša 2005a). Jedná se o taxon s převážně euroasijským areálem výskytu zasahujícím až do afrického středomoří (Procházka & Velísek 1983), dva druhy se vyskytují také v Severní Americe (Bertolini et al. 2000, Shipunov et al. 2004). Rod zahrnuje 25-75 druhů (Kubát 2010). Jejich odhadovaný počet se liší vzhledem k rozdílnému taxonomickému pojetí u různých autorů. Podle Ståhlberga bylo v tomto rodě v minulosti popisováno velké množství taxonů (ať už na druhové, nebo infraspecifické úrovni) pouze na základě malých morfologických odlišností, které se dají považovat spíše za fenotypovou plasticitu (Ståhlberg 2007). Jasně vymezení jednotlivých taxonů komplikuje také častá hybridizace na mezidruhové i mezirodové úrovni a vysoká fertilita kříženců. Rod *Dactylorhiza* je navíc považován za evolučně mladou skupinu a předpokládá se, že se u něj dosud uplatňují všechny mikroevoluční mechanismy, což jej činí taxonomicky velmi problematickým (Procházka & Velísek 1983).

1.1.2 *Dactylorhiza maculata* agg. v Evropě

Okruh *Dactylorhiza maculata* spadá v rámci rodu *Dactylorhiza* do sekce *Maculatae* (Parl.) Smolj. Zahrnuje 15-70 cm vysoké vytrvalé byliny s prstovitě dělenými 2-5dílnými hlízami. Lodyha je přímá, plná. Listy jsou zpravidla skvrnitě, kýlnaté nebo žlábkovité. Nejspodnější list může nabývat tvaru kopinatého až eliptického, ostatní listy jsou kopinaté. Několik horních listů má listenovitý charakter, ani nejvyšší z nich nedosahuje báze květenství. Květenstvím je hustý, kuželovitý, za rozkvetu pak válcovitý klas o délce 3-20 cm, čítající 7-40 květů. Květy podepřené listenem nabývají různých odstínů fialové, růžové až bílé barvy. Vnější okvětní lístky jsou šikmo odstálé, vnitřní se sklání v přílbu. Pysk je ± plochý, trojlaločný, většinou s pigmentovou kresbou. Ostruha má válcovitý až kuželovitý tvar a může být kratší, zděli nebo delší než semeník. Plodem je tobolka (Kubát 2010).

Jedná se o jednu z nejproblematictějších skupin v rámci celého rodu (Ståhlberg 2007). Obsahuje jak diploidní ($2n=40$), tak tetraploidní ($2n=80$) taxony (např. Dufřène et al. 1991,

Devos et al. 2005). Společně s okruhem *D. incarnata* tvoří polyploidní komplex, z něhož v minulosti pravděpodobně vzniklo mnoho dnes již poměrně dobře diferencovaných alopolyloidních taxonů, především z okruhu *D. majalis* (Nordström & Hedrén 2009). Ståhlberg považuje poznání evoluce *D. maculata* s. lat. jakožto rodičovského taxonu za klíčové, neboť všechny alopolyloidní druhy zdědily plastidový genom právě z této linie (Ståhlberg 2007).

Podle Ståhlberga zahrnuje široce pojatý okruh *D. maculata* čtyři morfologicky, ekologicky i geneticky dobře definované taxony: *D. maculata* s. str., *D. fuchsii*, *D. saccifera* a *D. foliosa* (Ståhlberg 2007). Dále sem někdy bývá řazena také *D. caramulensis* (Dufrière et al. 1991, Tyteca & Gathoye 2003). Existuje ovšem více názorů na taxonomickou hodnotu jednotlivých taxonů, především *D. fuchsii* a *D. maculata* s. str.

Dactylorhiza foliosa (Soland. ex Lowe) Soó je diploidní endemitem ostrova Madeira (Devos et al. 2005) a v literatuře bývá klasifikován na úrovni druhu (např. Buttler 2000).

Dactylorhiza saccifera (Brongn.) Soó je také diploidním taxonem, rovněž považovaným za samostatný druh (Mazzola et al. 1981). Jeho rozšíření je mediteránní, je uváděn ze Sicílie, Sardinie, Korsiky, Apeninského a Balkánského poloostrova a Malé Asie (Buttler 2000). Svým areálem nahrazuje *D. fuchsii* se severnějším výskytem (Dufrière et al. 1991).

Dactylorhiza caramulensis (Verm.) Tyteca je tetraploidním vikariantem *D. maculata* s. str. na území Portugalska, Španělska a jihozápadní Francie (Dufrière et al. 1991). Někdy bývá považována jen za subspecii *D. maculata* s. str. (Buttler 2000).

Dactylorhiza maculata (L.) Soó a *D. fuchsii* (Druce) Soó nebyly poměrně dlouhou dobu vůbec rozlišovány (Procházka & Velíšek 1983). Oba taxony se mají odlišovat především ploidií: *D. maculata* je považována za tetraploidní, *D. fuchsii* za diploidní taxon (Averyanov 1982, Dufrière et al. 1991, Ståhlberg 2009, Shipunov et al. 2004, Wucherpfennig 2004). Avšak některé literární údaje toto jednoduché schéma zpochybňují (Ståhlberg 2007, Ståhlberg & Hedrén 2010). Mnohé morfometrické studie potvrdily určitou míru diferenciací obou taxonů (Averyanov 1982, Gathoye & Tyteca 1987, Jagiełło 1987, Tyteca & Gathoye 2003), mezi autory však stále nepanuje shoda na konkrétních rozlišovacích znacích, ani na taxonomické kategorii, která těmto taxonům náleží. Vzhledem k předpokladu, že rozdílný počet chromosomových sad je silnou reprodukčně-izolační bariérou (Vöth & Greilhuber

1980), bývají právě na základě ploidie některými autory (v české literatuře téměř výhradně) klasifikovány jako samostatné druhy (např. Jatiová & Šmiták 1996, Procházka 2002, Průša 2005a, Kubát 2010). Naproti tomu existují důkazy nasvědčující recentnímu toku genů mezi oběma taxony (Shipunov et al. 2004, Devos et al. 2005, Ståhlberg 2009), mezi nimiž byla také zaznamenána hybridizace (např. Shipunov et al. 2004, Ståhlberg 2009). Autoři se však neshodují na míře hybridizace a s tím související síle reprodukčně-izolačních mechanismů. Zatímco někteří považují hybridizaci za relativně výjimečný jev (např. Ståhlberg 2007, 2009), jiní ji shledávají běžnou (např. Devos et al. 2005). Zdá se, že míra hybridizace se liší také v různých oblastech areálu. Tyto poznatky vedou především západoevropské autory k hodnocení obou taxonů pouze na úrovni poddruhů, tedy *D. maculata* (L.) Soó subsp. *maculata* a *D. maculata* subsp. *fuchsii* (Druce) Hyl. (Ståhlberg 2007, Ståhlberg & Hedrén 2008). V této práci byla respektována nomenklatura použitá v Květeně ČR (Kubát 2010).

Vzhledem k mnohým taxonomickým nesrovnalostem není přesně známo ani rozšíření obou taxonů (Procházka & Velisek 1983, Kubát 2010). *D. fuchsii* je pravděpodobně evropsko-středoasijským taxonem, vyskytujícím se kromě Středomoří v celé Evropě včetně nejsevernějších oblastí Skandinávie, na Islandu, v evropské části Ruska a dále na Sibiři, na východ zasahuje až do Mongolska a západní Číny (Procházka & Velisek 1983, Průša 2005a, Kubát 2010). *D. maculata* s. str. je uváděna hlavně z atlantské Evropy: Španělska (Casas et al. 1979, Amich et al. 2007), Francie, Belgie, Německa (Tyteca & Gathoye 2003), Velké Británie (Heslop-Harrison 1951), z celé Skandinávie včetně Finska, Pobaltských států a poloostrova Kola (Ståhlberg 2007, 2009), na východě zasahuje snad až do Povolží a k Uralu (Averyanov et al. 1982b). Z České republiky jsou v současnosti uváděny oba taxony (např. Procházka 2002, Kubát 2010).

1.1.3 *Dactylorhiza maculata* agg. v České republice

Vzhledem k tomu, že od sebe až donedávna nebyly *Dactylorhiza maculata* s. str. a *D. fuchsii* rozlišovány, jsou informace o těchto taxonech v ČR neúplné. Většina starších údajů týkajících se *D. maculata* s. lat. z našeho území se pravděpodobně vztahuje k *D. fuchsii* (Procházka & Velisek 1983). Českými autory jsou většinou oba taxony řazeny do taxonomické kategorie druhu (Procházka & Velisek 1983, Jatiová & Šmiták 1996, Procházka 2002, Průša 2005a, Kubát 2010). V rámci druhu *D. fuchsii* rozlišuje Kubát (2010) v České republice dva poddruhy: *D. fuchsii* (Druce) Soó subsp. *fuchsii* a *D. fuchsii* subsp. *soóana* (Borsos) Soó.

Z poddruhů *D. maculata* s. str. pak uvádí *D. maculata* (L.) Soó subsp. *maculata* a *D. maculata* subsp. *transsilvanica* (Schur) Soó.

Dactylorhiza fuchsii subsp. *fuchsii* je po *D. majalis* (Reichenb.) P. F. Hunt et Summerhayes subsp. *majalis* druhým nejhojnějším taxonem rodu *Dactylorhiza* v ČR (Jatiová & Šmiták 1996, Kubát 2010) a podobně je tomu s jeho rozšířením i na Slovensku (Procházka & Velísek 1983). U nás je vázán především na oreofytikum a vyšší polohy mezofytika. Roztroušeně se vyskytuje v hraničních horách Čech, na Moravě je poněkud hojnější (Kubát 2010). Je řazen do kategorie C4 ohrožených rostlin (Procházka 2001). Jeho podrobným popisem, stejně tak jako popisem obou subspecií *D. maculata*, se bude zabývat kapitola číslo 1.1.4.

Vedle nominální var. *fuchsii* udává Kubát (2010) z našeho území také var. *psychrophila* (Schlechter) Soó. *D. fuchsii* subsp. *fuchsii* var. *psychrophila* je sporným taxonem, který je většinou autorů (Procházka & Velísek 1983, Jatiová & Šmiták 1996, Průša 2005a, 2005b) považován za samostatnou subspecii *Dactylorhiza fuchsii* subsp. *sudetica* (Rchb.) Verm. Podle Kubáta (Kubát 2010) je naopak možné, že ani varieta není odpovídajícím rankem tohoto taxonu a že se jedná pouze o ekomorfozu, pro což má hovořit pravidelný výskyt intermediárních typů a závislost habitu rostliny na nadmořské výšce. Od nominální variety se má taxon odlišovat především nižším vzrůstem, obloukovitě nazpět prohnutými listy, kratším květenstvím a sytější barvou květů (Průša 2005b). Areálem jeho výskytu je severní a střední Evropa, kde je ovšem vázán jen na vysoká pohoří (Alpy, Sudety). V České republice se vyskytuje velmi vzácně v nejvyšších partiích Krušných hor, Krkonoš, Králického Sněžníku a Hrubého Jeseníku (Kubát 2010). Na Slovensku nebyl jeho výskyt zaznamenán (Průša 2005b). Je řazen do kategorie C2, tj. silně ohrožených taxonů (Procházka 2001).

Dactylorhiza fuchsii subsp. *soóana* se od nominální subspecie odlišuje především bíle zbarvenými květy, které mohou být s kresbou i bez kresby. Je pravděpodobně střeoevropským endemitem Maďarska, Slovenska a České republiky (Průša 2005a). Na naše území zasahuje jen na východní Moravě. Roste v české i slovenské části Bílých Karpat (Batoušek 1995). Je řazen do kategorie C1, tj. kriticky ohrožených taxonů (Procházka 2001).

Dactylorhiza maculata subsp. *maculata* se v České republice spolehlivě vyskytuje jen na Českolipsku (Kubát 2010). Několik sporných lokalit se nachází v Krušných horách, ověřena však byla zatím pouze na jedné z nich (Dundr & Vlačíha 2002). Nově byl taxon

uveden také z Rejvízu v Hrubém Jeseníku (Batoušek 2010). Je řazen do kategorie C1, tedy kriticky ohrožených taxonů (Procházka 2001).

Dactylorhiza maculata subsp. *transsilvanica* je považována za taxon s karpatsko-balkánským rozšířením. Je udávána z Rumunska, Ukrajiny, Maďarska, Slovenska, České republiky, Slovinska, Bosny a Chorvatska (Jatiová & Šmiták 1996, Kubát 2010). V ČR se vyskytuje na východní Moravě v Bílých Karpatech, kde je uváděna ze dvou lokalit (během průzkumu však byla nalezena pouze na jedné – lokalita Jazevčí), a v Moravskoslezských Beskydech, kde roste na lokalitách společně s *D. fuchsii* subsp. *fuchsii* a pravděpodobně zde dochází k silné hybridizaci (Batoušek 2010). Na Slovensku je známo několik lokalit, pouze na dvou z nich však rostou čisté populace, ostatní lokality jsou společné s nominální subspecií, případně s *D. fuchsii*, a podobně jako v Beskydech zde vznikají hybridní roje (Bernátová et al. 1993). V České republice je tento taxon řazen do kategorie C1, tj. kriticky ohrožených taxonů (Procházka 2001).

1.1.4 Charakteristika studovaných taxonů

Tato práce se zaměřuje na morfologickou a karyologickou variabilitu moravských populací označovaných jako *Dactylorhiza maculata* subsp. *transsilvanica* a její srovnání s *D. fuchsii* subsp. *fuchsii*, která se vyskytuje ve stejné oblasti. Proto je nutné oba taxony blíže charakterizovat. Jelikož variabilita *D. fuchsii* se do značné míry překrývá s variabilitou *D. maculata* subsp. *maculata* a jelikož základní rozlišovací znaky mezi těmito druhy mají platit rovněž pro *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, je vhodné popsat zde i nominální subspecií *D. maculata*, ačkoli se na studovaném území pravděpodobně vůbec nevyskytuje.

1.1.4.1 *Dactylorhiza maculata* s. str. a *D. fuchsii*

Dactylorhiza maculata (L.) Soó byla popsána Linnéem v roce 1753 pod jménem *Orchis maculata* L. (Linné 1753). V té době byly pod uvedené jméno zahrnovány oba taxony dnes souhrnně označované jako *D. maculata* s. lat., tedy *D. maculata* s. str. a *D. fuchsii*. *D. fuchsii* jako samostatný taxon byla poprvé rozlišována až v roce 1915 Druce, který ji nazývá *Orchis fuchsii* Druce (Druce 1915). Do rodu *Dactylorhiza* byly oba druhy přearženy maďarským botanikem Soó v roce 1962 (Soó 1962).

Dactylorhiza maculata je podle Kubáta (Kubát 2010) 25-60 cm vysoká bylina se 3-5 tmavě zelenými listy, které jsou na líci okrouhle skvrnitě nebo i beze skvrn. Nejspodnější list je úzce kopinatý až obkopinatý, s nejširším místem pod nebo nad 1/2 délky, na vrcholu tupě špičatý až tupý. Další listy jsou dlouhé až 15(-25) cm, široké do 2,5 cm, kopinaté, nejširší ve spodní 1/2 délky, na vrcholu zašpičatělé. Květy jsou zbarvené odstíny fialové, růžové až bílé; jsou-li zbarvené, pak většinou s kresbou. Pysk o délce 7-11 mm a šířce 9-13 mm je jenom mělce trojlaločný, členěný maximálně do 1/2 délky, střední lalok je vždy mnohem menší a na bázi asi 2x užší než postranní laloky. Většinou je prostřední úkrojek kratší, zdéli, nebo jen o málo přesahující úkrojky postranní. (Vpřípadě rostlin s neskvřnitými listy a bílými květy beze skvrn se jedná o subsp. *transsilvanica*, nominální subspecie má listy většinou skvrnitě a květy růžovofialově zbarvené – nejde-li o albinotické jedince). Počet chromosomů: $2n=80$ (Kubát 2010).

Dactylorhiza fuchsii dorůstá výšky až 70 cm. Listy jsou většinou na líci skvrnitě, tvar skvrn je však příčně eliptický. Spodní list má tvar eliptický až obvejčitý, nejširší je v horní 1/2 délky, na vrcholu není zašpičatělý. Největší list dosahuje délky až 20 cm a šířky 3,5(-5,5) cm. Květy mohou nabývat odstínů fialové až bílé barvy. Pysk je trojlaločný, členěný alespoň do 1/2 délky. Prostřední úkrojek přesahuje úkrojky postranní a je také alespoň stejně široký nebo širší. Počet chromosomů: $2n=40$ (Kubát 2010).

V souhrnu tedy existuje několik hlavních rozlišovacích morfologických znaků mezi *D. maculata* s. str. a *D. fuchsii*:

Za jeden z nejvýraznějších znaků je považován tvar pysku, především velikost a šířka prostředního úkroju (např. Procházka 2002). Mnozí autoři považují za nejvíce signifikantní index délky středního úkroju pysku, tzv. „shape index“ (Heslop-Harrison 1951), který se vypočítá podle vzorce $(2A)/(B+C)$ (kde A je délka pysku, B je délka postranních laloků od báze pysku a C vzdálenost báze středního úkroju od báze pysku; viz obr.1). Jeho hodnota fakticky udává poměr délky prostředního laloku pysku vůči lalokům postranním. Za mezní se považuje hodnota 1,2. Například podle Buttlera (Buttler 2000) rostliny s indexem $<1,2$ náleží k *D. maculata* s. str., zatímco rostliny s hodnotou indexu $>1,2$ se řadí k *D. fuchsii* (nutno však upřesnit, že tento autor upřednostňuje hodnocení těchto dvou taxonů pouze na úrovni poddruhu). Pro rostliny *D. fuchsii* ze západoevropských populací pak byly dokonce zjištěny hodnoty tohoto indexu okolo 1,45, zatímco hodnoty *D. maculata* s. str. oscilovaly opět kolem 1,2 (Dufrêne et al. 1991).

Dalším důležitým znakem má být tvar (resp. šířka) prvního a druhého listu. Například Procházka (2002) uvádí, že nejspodnější list je u *D. maculata* s. str. nejširší v 1/3 až 1/2 délky, zatímco u *D. fuchsii* je to až ve 2/3 délky. Podobně je tomu pak také u druhého listu (Kubát 2010). Jiní autoři zase uvádějí, že listy *D. maculata* s. str. jsou užší, než je tomu u *D. fuchsii* (např. Averyanov 1982, Jagiełło 1987, Ståhlberg 2009).

Poměrně často uváděným znakem je také tvar skvrn na listech. Zatímco *D. maculata* s. str. má mít skvrny tvaru okrouhlého, skvrny *D. fuchsii* mají být příčně protáhlé (Procházka & Velíšek 1983, Procházka 2002, Kubát 2010, Průša 2005a).

Posledním morfologickým znakem je zakončení listu. Pro *D. maculata* s. str. jsou typické listy zakončené špičkou, listy *D. fuchsii* jsou většinou zakončeny tupě (Averyanov 1982, Procházka & Velíšek 1983, Procházka 2002, Průša 2005a, Kubát 2010). Borsos (1961) ovšem uvádí pro *D. maculata* subsp. *transsilvanica* zakončení listů tupé.

Za nejdůležitější rozlišovací znak mezi oběma taxony je dnes mnohými autory považována ploidie. *D. fuchsii* je většinou považována za diploidní taxon s chromosomovým počtem $2n = 40$, zatímco *D. maculata* s. str. by měla být tetraploidní s chromosomovým počtem $2n = 80$ (např. Averyanov et al. 1982b, Průša 2005a, Procházka 2002, Ståhlberg 2007).

Podle Ståhlberga (Ståhlberg 2007) vznikla tetraploidní *D. maculata* s. str. pravděpodobně autopolyloidizací z diploidní *D. fuchsii* (ačkoli Devos et al. (2005) připouští i možný alopolyloidní původ, za rodičovské taxony označuje *D. fuchsii* a *D. foliosa*). K autopolyloidizaci došlo u *D. fuchsii* minimálně třikrát. Dvakrát ještě před nástupem holocénu, kdy vznikly dvě geograficky oddělené linie *D. maculata* s. str. (jihozápadoevropská a severo-východoevropská), které se již dostatečně morfologicky odlišují od rodičovského taxonu. Třetí, holocénní autopolyloidizace proběhla až v postglaciálu a vedla ke vzniku tetraploidní linie, která se morfologicky nijak neodlišuje od diploidního *D. fuchsii* (Ståhlberg 2007, Ståhlberg & Hedrén 2010). Tato hypotéza dobře vysvětluje fakt, že ve střední Evropě byly opakovaně nalézány tetraploidní populace, které buď byly podle morfologických znaků zařazeny k *D. fuchsii*, nebo byly na základě ploidie popisovány jako nové infraspecifické taxony *D. maculata* s. lat. s diagnostickými znaky odpovídajícími spíše *D. fuchsii* (např. Vöth 1978).

Nálezy tetraploidních rostlin *D. fuchsii* jsou známé z francouzských Pyrenejí (Cauwet-Marc & Balayer 1984), Itálie (Bertolini et al. 2000) Rakouska (Vöth & Greilhuber 1980), Německa (Scharfenberg 1977), Polska (Jagiełło & Lankosz.Mróz 1986-1987) i České

republiky. V České republice byly nalezeny v Krkonoších (Krahulcová 2003) a v Orlických horách (Měsíček & Javůrková-Jarolímová 1992).

Stěpanov vedle chromosomového počtu $2n = 40$ pro *D. fuchsii* z území Ruska udává také $2n = 20$ (Stepanov 1994). Tento údaj je v rozporu s obecně přijímaným názorem, že základní chromosomové číslo rodu *Dactylorhiza* je $n = 20$ (Procházka & Velisek 1983, Cauwet-Marc & Balayer 1984, Amich et al. 2007, Tyteca & Klein 2008). Rostliny s chromosomovým číslem $2n = 40$ by pak musely být označovány jako tetraploidní a rostliny s $2n = 80$ jako oktoploidní, což ovšem obecně nebývá autory přijímáno a tato situace není známá ani u příbuzných druhů. Kromě Stěpanova bývá se stejným údajem, tj. $2n = 20$ pro *D. fuchsii*, citována také práce britských autorů (Montgomery et al. 1997). Jedná se však pravděpodobně o „tradovaný“ omyl, neboť jediný uvedený chromosomový počet pro tento taxon v této práci je $n = 20$, tedy $2n = 40$.

Na druhou stranu jsou známé i nálezy rostlin morfologicky hodnocených jako *D. maculata* s. str., avšak s chromosomovým počtem $2n = 40$ (Casas et al. 1979, Bertolini et al. 2000). Další práce pak uvádí pro *D. maculata* s. str. zjištěná chromosomová čísla $2n = 100$, 120 , která však byla spočítána pouze u některých jedinců v rámci jinak tetraploidní populace a mohou být pouze důsledkem hybridizace nebo polyspermie (Averyanov 1979). V literatuře jsou pod jménem *D. maculata* uváděny i rostliny s $2n = 60$ (Averyanov 1977, 1979), jednalo se však pravděpodobně o hybrida diploidní a tetraploidní rostliny, které jsou v této oblasti (severozápadní Rusko) morfologicky nerozlišitelné (Averyanov et al. 1980).

Tyto nesrovnalosti vedou některé autory k závěru, že ani ploidie není spolehlivým znakem k rozlišování *D. maculata* s. str. a *D. fuchsii* (Cauwet-Marc & Balayer 1984, Bertolini et al. 2000), případně že ji lze použít jen v některých oblastech areálu výskytu. Například Ståhlberg a Hedrén uvádí dobrou korelaci mezi ploidním stupněm a morfologickými znaky u skandinávských populací (Ståhlberg 2007, Ståhlberg et Hedrén 2008), zatímco Averyanov et al. (1982a) konstatují, že mezi ruskými diploidy a tetraploidy není jediný morfologický rozdíl. Větší váhu proto někteří autoři (např. Averyanov 1982, Averyanov et al. 1982a, Cauwet-Marc & Balayer 1984) přikládají ekologickým znakům a preferencím.

Podle Kubáta (Kubát 2010) preferuje *D. maculata* s. str. humózní, slabě kyselé až kyselé, místy i neutrální půdy. Vyskytuje se na mírně suchých nebo vlhkých stanovištích, loukách, slatinách, rašeliništích a prameništích. *D. fuchsii* dává přednost bazičtějším, vápnatým nebo jen slabě kyselým půdám. Roste na vlhkých až podmáčených stanovištích, ale také v příkopech, na okrajích cest a ve světlejších jehličnatých lesích. Mnoho pozorování ukázalo, že *D. maculata* s. str. skutečně dává přednost kyselejším půdám s hodnotou pH už od

4-6, zatímco *D. fuchsii* vyžaduje pH 6-7 (např. Jagiełło 1987). Vöth (1978) zase poukazuje na výskyt tetraploidů na sušších stanovištích a větší rezistenci v letech s nízkým úhrnem srážek. Autopolyploidizaci pak považuje za dobrou adaptaci na sucho, což ověřil i experimentálně.

Ačkoli je zde zřejmá jakási ekologická diferenciacie, ekologické amplitudy obou taxonů se částečně překrývají, což má za následek existenci mnoha společných lokalit, na nichž navíc může docházet k hybridizaci (Ståhlberg 2007, 2009) a determinace jednotlivých rostlin je zde velmi obtížná. Obzvláště složitá situace je pak ve střední Evropě, kde nelze jako určovací znak použít ani ploidii (Ståhlberg & Hedrén 2010).

1.1.4.2 *Dactylorhiza maculata* subsp. *transsilvanica*

Dactylorhiza maculata subsp. *transsilvanica* byla poprvé popsána německým botanikem Schurem jako samostatný druh *Orchis transsilvanica* Schur. Ke jménu je připojen popis: „*gracilis, fol. angustis, super. lineari-subulatis, inflorescetia densiflora oblonga, bracteis infimis flore brevioribus, floribus niveis, labello latissimo antice tricrenato, crenis mediis brevissimis emarginatis, calcare ovario dimidio brevior*“ (rostliny gracilní; listy úzké, horní listy čárkovité až šídlovité; květenství hustokvětá, podlouhlá; spodní listy nepřesahují květy; květy bílé, pysk široký, trojlaločný, prostřední úkrojek kratší postranních, ostruha zděli poloviny semeníku) (Schur 1853).

Maďarský botanik Soó pak poprvé řadí tento taxon do rodu *Dactylorhiza* jako subspecii druhu *D. maculata* (Soó 1962). Averyanov (1982a) jej sice také řadí do rodu *Dactylorhiza*, ovšem jako samostatný druh *D. transsilvanica* (Schur) Aver. Naopak Delforge (2000) přiřadil tomuto taxonu pouze rank variety, jméno taxonu tedy podle něho zní *D. maculata* var. *transsilvanica* (Schur) P. Delforge. Ve většině literatury je však stále akceptováno jméno *D. maculata* subsp. *transsilvanica* (Schur) Soó.

Lektotyp byl vybrán Kleinem a Deutschem z materiálu sebraného Schurem v okolí rumunského města Sibiu (Sibiň) v roce 1853 (Klein & Deutsch 2005).

Podle Kubáta (Kubát 2010) zahrnuje *D. maculata* subsp. *transsilvanica* 25-60 cm vysoké rostliny s neskvrnitými, úzce obkopynými až úzce podlouhlými a tupě zakončenými listy s nejširším místem zpravidla nad ½ délky. Květy jsou zbarveny bíle, mohou být i narůžovělé, na bázi pysku nažloutlé, zpravidla bez kresby. Pysk je 10-12 mm dlouhý a 14-16 mm široký, trojlaločný, s malým prostředním lalokem, který dosahuje nebo i přesahuje laloky postranní.

Průša (2005a) však uvádí, že kopinaté až čárkovité listy v počtu 6-10 jsou nejširší přibližně v polovině délky. Pysk má délku 6-9 mm, je bez kresby a prostřední lalok je nápadně menší a kratší nebo stejně dlouhý jako laloky postranní.

V Klíči ke květeně ČR (Procházka 2002) se pak také připouští narůžovělé zbarvení květů, které jsou ale vždy bez kresby a s prostředním úkrojkem malým, kratším nebo nanejvýš zdéli úkrojku postranních. Listy jsou vždy neskvrnité, první dobře vyvinutý list je nejširší v dolní třetině až polovině délky.

Borsos (1961) tento taxon charakterizuje dokonce žlutobílými až máslově žlutými květy, pyskem tvarově shodným s *D. maculata* subsp. *maculata*, listy neskvrnitými a víceméně tupě zakončenými. Na základě tvaru pysku však tato autorka rozlišuje dvě variety. Vedle nominátní var. *transsilvanica* je to také var. *hunyadensis* Borsos et Soó, která se odlišuje hluboce trojlaločným pyskem s prostředním úkrojkem mnohem delším než úkrojky postranní, např. jako u *D. saccifera*. Tuto varietu udává z jižních Karpat, přechodné typy také z Karpat východních.

Žlutavé zbarvení květů bývá v literatuře uváděno poměrně často (např. Jatiová & Šmiták 1996, Průša 2005a), aniž by byla citována konkrétní pozorování tohoto jevu nebo publikovány fotografie. Wucherpfennig (2004) se domnívá, že žlutě kvetoucí rostliny byly popsány botaniky, kteří studovali pouze herbářové položky. Bíle kvetoucí rostliny totiž herbarizací zežloutnou.

Z popisů od výše citovaných autorů je zřejmé, že mezi populacemi považovanými za tento taxon v různých oblastech areálu jsou značné morfologické rozdíly. Za poměrně konstantní znak odlišující taxon od všech ostatních blízkých taxonů by mohla být považována především barva květů. Ty mají být podle různých autorů bílé, nažloutlé nebo narůžovělé, vždy bez kresby. Bílé či narůžovělé však mohou být i květy *D. fuchsii* (např. Kubát 2010). Podobně je tomu i se skvrnami na listech, které také u *D. fuchsii* mohou chybět (Průša 2005a, Kubát 2010). Problém s rozlišením těchto dvou taxonů pak nastává ve smíšených populacích, jaké se nacházejí na svahových prameništích v Beskydech (Batoušek 2010).

Většinou autorů je *D. maculata* subsp. *transsilvanica* považována, stejně jako nominátní subspecie, za tetraploidní taxon ($2n = 80$) (např. Procházka 2002, Průša 2005a), což je také pravděpodobně hlavním kritériem, proč bývá řazena k *D. maculata* s. str., i když tomu třeba neodpovídají některé morfologické znaky. Diskuzi vyvolal článek Wucherpfenniga, v němž autor označuje jistou slovinskou populaci za diploidní a na základě toho odmítá příslušnost taxonu k *D. maculata* s. str. (Wucherpfennig 2004). Klein a Deutsch na to reagovali ověřením ploidie z jiné, nedaleké slovinské populace, kde zjistil počet chromosomů odpovídající

tetraploidnímu stavu (Klein & Deutsch 2005). Přesto není zřejmé, zda lze tedy považovat *D. maculata* subsp. *transsilvanica* za taxon výhradně tetraploidní, nebo existují dva různé cytotypy, vyskytující se navíc na geograficky nepříliš vzdálených lokalitách. Podobný problém nastínil také Kubát (2010) z území České republiky, když poukázal na možnost, že na beskydské lokalitě (rezervace Pod Juráškou) rostou rostliny s diploidním počtem chromosomů ($2n = 40$), zatímco bělokarpatská populace v rezervaci Jazevčí by měla být tetraploidní ($2n = 80$).

1.2 Cíle práce

Tato práce se zaměřuje především na moravské (a jednu slovenskou) populace v literatuře označované jako *Dactylorhiza maculata* subsp. *transsilvanica*, jejich morfologickou a karyologickou variabilitu. V tomto smyslu si klade za cíl zodpovědět následující otázky:

- 1) Existuje u tohoto taxonu cytotypová variabilita mezi zkoumanými populacemi?
- 2) Liší se populace na studovaném území nějakými morfologickými znaky?
- 3) Jakými morfologickými znaky se liší *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii* vyskytující se na společném území v pohoří Moravskoslezských Beskyd?

2. MATERIÁL A METODIKA

2.1 Rostlinný materiál

Sběr dat pro morfologické a karyologické studium proběhl v letech 2011-2012. Do obou analýz bylo zahrnuto celkem deset populací z devíti lokalit (na lokalitě Pod Juráškou se mísí populace obou studovaných taxonů a byly tak získány údaje pro dvě populace z jedné lokality). Do výsledků karyologické analýzy bylo navíc zahrnuto několik rostlin, které nenáležely k žádné z populací analyzovaných morfometricky. Naopak ne u všech morfometricky změřených jedinců se podařilo zjistit ploidii. Naprostá většina jedinců byla ovšem podrobena oběma analýzám. Počty studovaných rostlin podle lokalit jsou uvedeny v tab. 1. Bližší popis lokalit je uveden v příloze 4, fotodokumentace v příloze 3.

Tab. 1: Počty studovaných rostlin v karyologické a morfometrické analýze podle lokalit a taxonů.
T = *D. maculata* subsp. *transilvanica*, F = *D. fuchsii*, M = *D. maculata* subsp. *maculata*, X = nelze určit.

	Karyologická analýza					Morfometrická analýza		
	T	F	M	X	celkem	T	F	celkem
Abrod	10	0	5	0	15	15	0	15
Jazevčí	13	0	0	0	13	20	0	20
Kudlačena 1	11	3	0	2	16	15	0	15
Kudlačena 2	13	4	0	5	22	15	0	15
Oravice	0	6	0	0	6	0	0	0
Pod Juráškou	13	13	0	4	30	15	13	28
Podlízaná	9	3	0	0	12	13	0	13
Podgrůň	0	18	0	0	18	0	25	25
Poskla	0	15	0	0	15	0	20	20
Smutné údolí	0	12	0	0	12	0	15	15
celkem	69	74	5	11	159	93	73	166

2.2 Karyologické studium

Ploidní stupeň byl zjišťován metodou průtokové cytometrie srovnáním s vnitřním standardem. U jedné rostliny *D. fuchsii* (sbírané na severozápadním Slovensku u osady Oravica) byl zároveň zjištěn počet chromosomů z roztakového preparátu nezralých prašníků. Podle výsledku pak bylo stanoveno, jaký poměr píků (index) odpovídá jakému počtu chromosomů.

2.2.1 Stanovení počtu chromosomů

Počet chromosomů byl zjištěn z roztlakového preparátu nezralých prašníků jedné rostliny *D. fuchsii*. Několik pupat bylo odebráno, nafixováno směsí ethanolu a kyseliny octové (3:1) po dobu 24 hod. a dále uchováváno v 70% ethanolu při 4°C.

Samotné provedení roztlakového preparátu bylo provedeno podle Krahulcové (Krahulcová 1998). Nejprve bylo nutné poupě vyjmout z ethanolu, promýt vodou a provést maceraci v 1N HCl při 60°C po dobu 5 minut. Poté bylo poupě opět promyto a umístěno na podložní sklo. Zde z něho byl vypreparován prašník a zbytek pletiv byl odstraněn. Pomocí krycího skla byl proveden roztlak. Zbytky vody byly odsáty filtračním papírem a k preparátu bylo přikápnuto barvivo lakto-propionový orcein. Asi po 1 minutě bylo možno pozorovat buňky zárodečného pletiva. Chromosomy byly spočítány v šesti meiotických buňkách u jednoho jedince *D. fuchsii*.

2.2.2 Stanovení ploidie

Stupeň ploidie byl změřen celkem u 159 rostlin. Na smíšených lokalitách byla ploidie zjišťována jak u rostlin jednoznačně náležejících ke konkrétnímu taxonu, tak i u problematických rostlin, jejichž determinace na základě morfologických znaků nebyla možná. Tyto rostliny pak nebyly ani zahrnuty do morfometrických analýz. Naopak ne u všech rostlin zahrnutých do morfometrických analýz byl stanoven ploidní stupeň. Jelikož se však populace jevily cytotypově zcela homogenní, lze předpokládat, že nezměřené rostliny mají stejnou ploidii jako zbytek populace.

Za účelem stanovení ploidie byl z každé rostliny odebírán jeden list. Ten byl pak uchováván v lednici, zabalený ve vlhkém papírovém kapesníku a mikrotenovém sáčku, dokud nebyl použit k cytometrování. Měření proběhlo metodou vnitřního standardu (Doležel 1997). Asi 1 cm² listu byl žiletkou homogenizován společně s vnitřním standardem v 1000 ml LBO1 pufru o pH = 7,5 (Doležel et al. 1994). Suspenze byla přefiltrována přes nylonový filtr do kyvety s 300 ml LB pufru. Poté bylo do kyvety pipetováno 50 µl barviva - propidium jodidu (PI).

Ke stanovení ploidního stupně byl použit průtokový cytometr Partec CyFlow ML (Germany). Měřeno bylo na 512-kanlové stupnici. Pro každý vzorek byl vypočten index definovaný jako podíl hodnoty píku vzorku ku hodnotě píku standardu. Vynásobením tohoto indexu velikostí genomu příslušného standardu pak byl zjištěn přibližný obsah DNA vzorku.

Jako vnitřní standard byl užit nejprve hrách (*Pisum sativum*) o známém obsahu genomu $2C = 8,76$ pg (Doležel et al. 1998). V průběhu měření se ukázalo, že vzhledem k poloze piků bude vhodnější užití standardu žita (*Secale cereale*) o obsahu genomu $2C = 16,19$ pg (Doležel et al. 1998).

2.3 Morfometrické studium

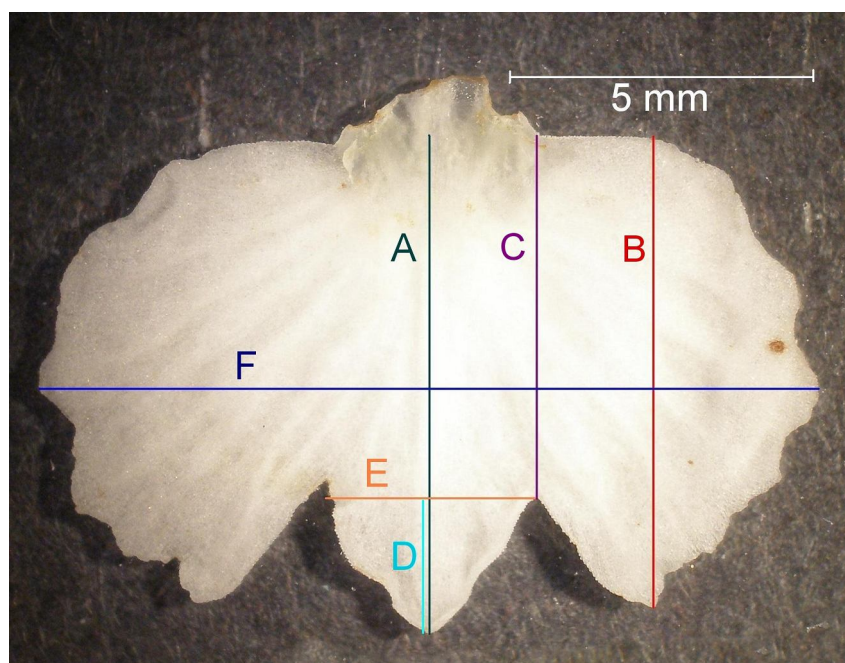
2.3.1 Sběr dat

Analýza morfologických znaků byla provedena celkem na 166 rostlinách z deseti populací. Bylo změřeno 93 jedinců *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ze šesti lokalit a 73 jedinců *D. fuchsii* ze čtyř lokalit. V každé populaci bylo měření podrobena 13–25 rostlin (medián = 15). Převážná většina morfometricky změřených rostlin byla následně podrobena karyologické analýze.

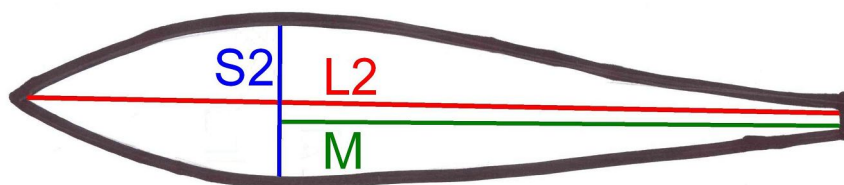
V případech nesmíšených (čistých) populací (Jazevčí, Poskla, Podgrůň, Smuté údolí) byly rostliny vybírány víceméně náhodně, pouze s přihlédnutím k celkové variabilitě populace. Většina populací však byla smíšená: v Beskydech roste *D. maculata* subsp. *transsilvanica* společně s *D. fuchsii*, na slovenské lokalitě Abrod pak s *D. maculata* subsp. *maculata*. Ve všech těchto případech dochází k hybridizaci a vzniku mnoha přechodných forem mezi oběma taxony. V takovém případě nelze použít zcela náhodný výběr, ale je potřeba analyzovat pouze rostliny, které lze jednoznačně determinovat nebo které se svým fenotypem nejvíce blíží předpokládanému taxonu na dané lokalitě (Bateman & Denholm 1989). Výběr byl prováděn především na základě barvy květů, skvrn na listech a celkového habitu rostliny. Za *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byly považovány rostliny s úzkými, šikmo odstálými neskvrnitými listy a bílými (nebo jen lehce narůžovělými) květy bez kresby na pysku. Jako *D. fuchsii* byly vyhodnocovány rostliny se širšími, alespoň slabě skvrnitými listy a zbarveným pyskem. Podobné kritérium bylo použito i u smíšené populace na lokalitě Abrod, kde rostliny s bílými (nebo slabě růžovými) květy bez kresby na pysku a beze skvrn na listech byly určeny jako *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, rostliny s kresbou na pysku a se skvrnitými listy byly považovány za *D. maculata* subsp. *maculata*.

Na každé rostlině bylo měřeno celkem 15 znaků. Některé z těchto znaků mají smysl pouze v poměru k jinému znaku, nebyly tedy statisticky testovány, ale byly použity pro výpočet indexů. Vzhledem k tomu, že se jedná o chráněné a ohrožené taxony (C1, §1 resp. C4, §3), nemohly být rostliny sbírány ani kultivovány a většina znaků byla proto měřena

přímo v terénu na živých rostlinách. Pouze znaky měřené na květech byly zjišťovány dodatečně z fotografií pysků pořízených pod binokulární lupou. Měření bylo provedeno na pysku z nepoškozeného a nedeformovaného květu ze spodní části květenství, nikoli však prvního (obvykle bývá oproti dalším květům větší). K měření těchto znaků byl použit program ImageJ. Měřené znaky včetně jednotek a použitých zkratk jsou uvedeny v tab. 2. Znaky a indexy použité pro statistické zhodnocení a vzorce pro výpočty indexů viz tab. 3. Primární znaky měřené na listech jsou také zobrazeny na obr. 2, znaky na květech na obr. 1.



Obr. 1: Znaky měřené na pysku květu.



Obr. 2: Znaky měřené na druhém listu (na prvním listu měřeny analogicky, avšak bez hodnoty M).

Tab. 2: Seznam znaků měřených na rostlině a použité jednotky a zkratky.

Zkratka	znak	jednotky
V	Výška	cm
P	Počet listů	-
L1	Délka prvního listu	mm
S1	Šířka prvního listu	mm
U1	Úhel prvního listu vůči lodyze	stupně
L2	Délka druhého listu	mm
S2	Šířka druhého listu	mm
U2	Úhel druhého listu vůči lodyze	stupně
M	Vzdálenost nejširšího místa druhého listu od báze tohoto listu	mm
A	Délka pysku	mm
B	Délka postranních laloků od báze pysku	mm
C	Vzdálenost báze středního úkrojku od báze pysku	mm
D	Délka středního úkrojku	mm
E	Šířka středního úkrojku	mm
F	Šířka pysku	mm

Tab. 3: Seznam znaků a indexů, které byly statisticky vyhodnocovány, a jejich výpočet. *M = vzdálenost nejširšího místa druhého listu od báze tohoto listu. (Zkratky použité ve výpočtech viz tab. 2).

Číslo	znak	výpočet
1	Výška	-
2	Počet listů	-
3	Délka prvního listu	-
4	Šířka prvního listu	-
5	Úhel prvního listu vůči lodyze	-
6	Délka druhého listu	-
7	Šířka druhého listu	-
8	Úhel druhého listu vůči lodyze	-
9	Výška / počet listů	V / P
10	Výška / délka prvního listu	V / L1
11	Výška / délka druhého listu	V / L2
12	Délka / šířka prvního listu	L1 / S1
13	Délka / šířka druhého listu	L2 / S2
14	Délka druhého listu / M*	L2 / M
15	Délka pysku	-
16	Šířka pysku	-
17	Heslop-Harisonův index	(2A) / (B+C)
18	Index délky stř. úkrojku pysku	A / D
19	Index šířky stř. úkrojku pysku	F / E
20	Index hloubky zářezu na pysku	B / (B-C)

2.3.2 Statistické zpracování dat

Pro každý znak byl nejprve vypočítán průměr \pm s.d. (směrodatná odchylka), medián a rozmezí (vyjádřeno jako minimum – maximum). Tyto hodnoty byly zjišťovány zvlášť pro jednotlivé populace.

Variabilita mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byla zjišťována jednocestnou analýzou variance ANOVA. Pro každý znak byla zjištěna hodnota F a příslušná hladina významnosti P, přičemž za signifikantní bylo považováno $P \leq 0,05$. Pokud byl výsledek signifikantní, byla data podrobena Tukey-Kramerovu testu mnohonásobných porovnání, aby bylo zjištěno, které populace se od sebe signifikantně odlišují. V případech, kdy data nespĺňovala podmínky pro užití testu ANOVA (rovnost variancí, normalita), byly použity neparametrické obdoby těchto testů.

Dále byly zjišťovány odlišnosti mezi beskydskými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii*. Do této analýzy nebyly zahrnuty populace na lokalitách Abrod ani Jazevčí a to ze tří důvodů, jimiž jsou: a) geografická odlišnost b) nehomogenita morfologických znaků s ostatními populacemi stejného taxonu c) nesrovnávatelnost velikostí vzorků. Pro stanovení odlišností mezi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii* byla použita hierarchická ANOVA, kdy za fixní faktor byl považován taxon a za faktor podřízený populace. Opět byla vypočítána hodnota F a hladina významnosti P, signifikantní pro $P \leq 0,05$. Byl sledován vliv taxonu a vliv populace na celkovou variabilitu.

V případě, že nebyly splněny podmínky pro použití testu ANOVA, byla použita neparametrická obdoba jednocestné ANOVY, kdy byly testovány rozdíly mezi populacemi bez ohledu na taxon. V případě, že výsledek nebyl signifikantní, nemohl daný znak sloužit k odlišení žádné populace, natož pak taxonu. Pokud výsledek byl signifikantní, bylo provedeno mnohonásobné porovnání (neparametrickým testem) a bylo sledováno, které populace se od sebe odlišují, ke kterému náleží taxonu a jestli je u znaku tendence k nabývání určitých hodnot v závislosti na taxonu. Tímto způsobem ovšem nelze statisticky prokázat vliv jednotlivých taxonů na celkovou variabilitu.

Variabilita každého znaku mezi všemi analyzovanými populacemi byla graficky vyjádřena pomocí krabičkových diagramů. Krabička je ohraničena dolním a horním kvantilem (x_{25} – x_{75}). Linka uvnitř krabičky znázorňuje medián. Vousy představují 1,5násobek mezikvartilového rozpětí a tečky ležící za hranicí vousů jsou odlehlé hodnoty. Před názvem lokality na ose x je v krabičkových diagramech vždy uvedeno písmeno F nebo T, které označuje, o jaký taxon se jedná (F = *D. fuchsii*, T = *D. maculata* subsp. *transsilvanica*).

Statistické analýzy byly provedeny s vyloučením odlehlých hodnot. Tabulky s deskriptivní statistikou však tato data zahrnují. Všechny výše uvedené statistické operace a výpočty byly provedeny v programu NCSS. V tomto programu byly rovněž sestaveny krabičkové diagramy. Tabulky byly sestaveny v programu MS Excel.

Na závěr byla provedena fenetická analýza všech studovaných populací. Byly sestaveny dendrogramy vyjadřující míru morfologické podobnosti, vytvořené metodou shlukové analýzy UPGMA s Eukleidovskou vzdáleností jako mírou vzdálenosti mezi vzorky. Analýzy byly provedeny v programu NCSS.

3. VÝSLEDKY

3.1 Karyologické studium

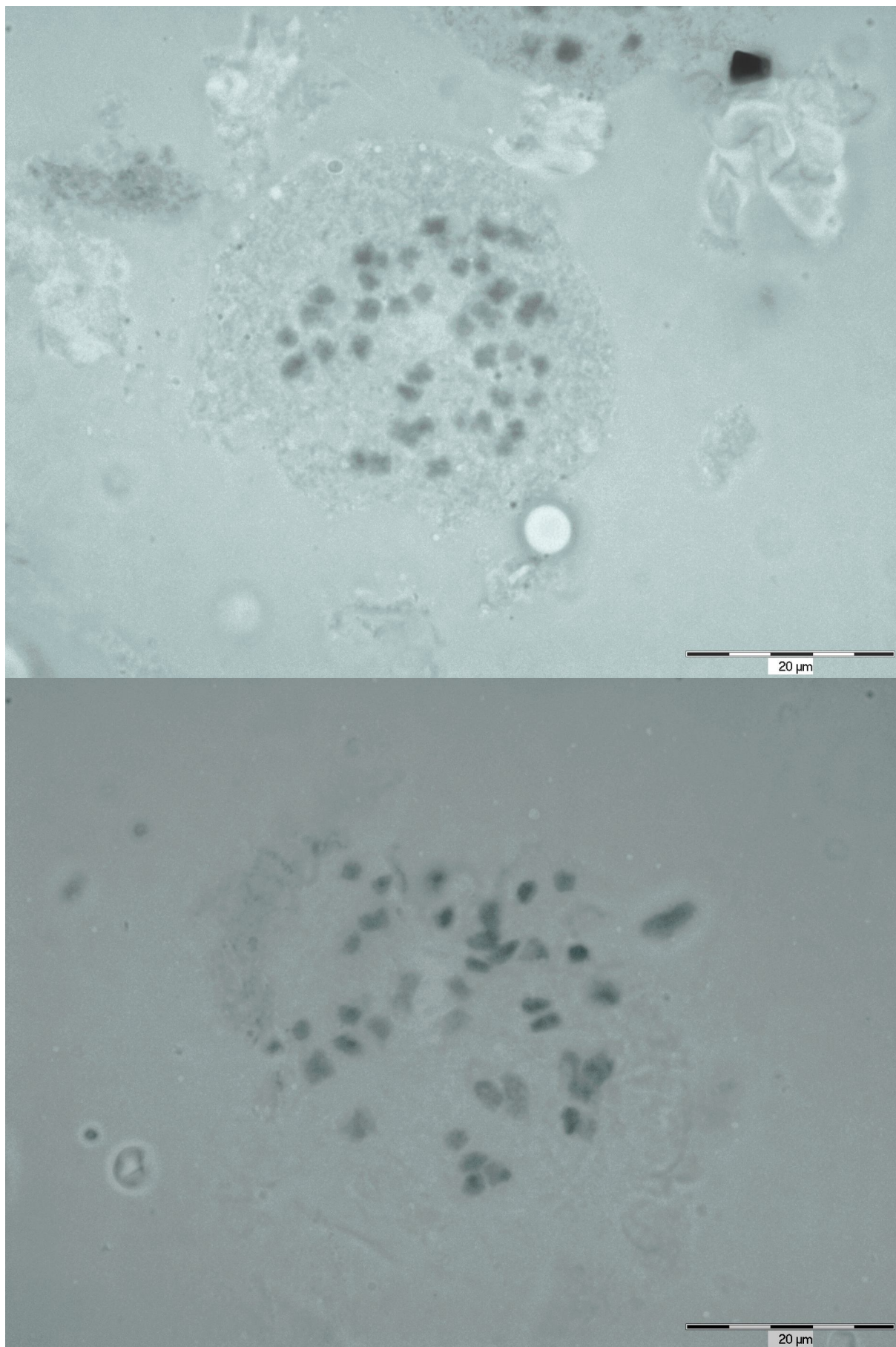
3.1.1 Stanovení počtu chromosomů

Počet chromosomů z roztlakových preparátů nezralých prašníků se podařilo zjistit pro jednu rostlinu *D. fuchsii*. Zjištěný počet chromosomů byl $n = 40$, což odpovídá cytotypu obecně považovanému za tetraploidní. Chromosomy byly spočítány celkem v šesti buňkách této rostliny, vždy se stejným výsledkem. Příklady roztlakových preparátů viz obr.3.

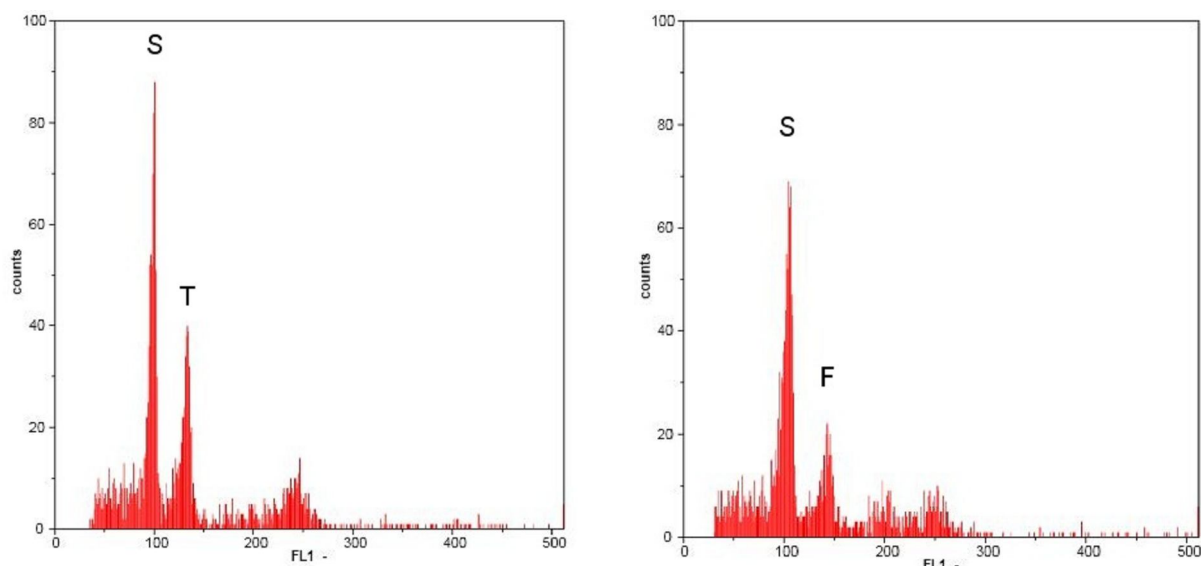
3.1.2 Stanovení ploidie

Ploidní úroveň byla metodou průtokové cytometrie stanovena u 159 rostlin, z toho 69 rostlin bylo analyzováno jako *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, 74 rostlin jako *D. fuchsii* a 11 rostlin pocházejících ze smíšených lokalit těchto dvou taxonů nebylo možno spolehlivě přiřadit ani k jednomu taxonu. Dále byla zjištěna ploidie pro 5 rostlin z lokality Abrod udávaných jako *D. maculata* subsp. *maculata*, která se zde vyskytuje společně s analyzovanou populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Mezi analyzovanými rostlinami *D. fuchsii* byla také rostlina, u níž byly spočítány chromosomy klasickou metodou roztlakových preparátů.

Na základě polohy píků vůči použitým standardům bylo zjištěno, že všechny analyzované rostliny (včetně kontrolní rostliny s chromosomovým počtem zjištěným z roztlakových preparátů) mají přibližně stejnou velikost genomu a musí proto být považovány za tetraploidní, tj. $2n = 80$. Ukázky grafických výstupů z měření ploidie viz obr.4.



Obr. 3: Roztlakové preparáty nezralých prašníků *D. fuchsii* s počtem chromosomů $n = 40$.



Obr. 4: Grafické výstupy z měření ploidie na průtokovém cytometru. Osa x představuje 512-kanálovou stupnici, osa y udává počet částic zaznamenaných na jednotlivých kanálech. S = vnitřní standard (*Pisum sativum*) o velikosti genomu 8,76 pg, T = *Dactylorhiza maculata* subsp. *transsilvanica* (z lokality Abrod), F = *D. fuchsii* (z lokality Poskla).

3.2. Morfometrické studium

Byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* i mezi studovanými taxony, tedy *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii* na území Moravskoslezských Beskyd. Rozdíly zjištěnými u jednotlivých testovaných znaků se zabývají následující podkapitoly. Tab. 4 podává souhrn výsledků testování rozdílů mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Tab. 5 je souhrnem výsledků testu hierarchická ANOVA pro stanovení vlivu taxonů a vlivu populací na celkovou variabilitu. Pro každý znak byl sestaven krabičkový diagram. Jeho vysvětlení je již uvedeno v kapitole 2.3.2.

Tab. 4: Souhrn výsledků testu jednocestná ANOVA (případně Kruskal-Wallisova testu) pro testování rozdílů mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Stupně volnosti se měnily v závislosti na počtu vyloučených odlehlých hodnot a jsou proto uvedeny pro každý znak zvlášť. Kruskal-Wallisův test byl použit pouze v případě nesplnění podmínek pro použití parametrického testu ANOVA. Zvýrazněny jsou signifikantní výsledky a také znaky, u nichž byl výsledek signifikantní. Za signifikantní je považován výsledek $P \leq 0,050$.

	ANOVA			Kruskal-Wallis	
	F _{5,df}	P	df	H (df=5)	P
Výška	5.10	< 0.001	87		
Počet listů	4.00	0.003	82		
Délka prvního listu				22.99	< 0.001
Šířka prvního listu				17.10	0.004
Úhel prvního listu	2.71	0.025	85		
Délka druhého listu	3.61	0.005	85		
Šířka druhého listu	7.28	< 0.001	84		
Úhel druhého listu	1.74	0.133	86		
Výška / počet listů	5.72	< 0.001	86		
Výška / délka prvního listu				20.36	0.001
Výška / délka druhého listu	1.37	0.245	87		
Délka / šířka prvního listu				26.31	< 0.001
Délka / šířka druhého listu				33.99	< 0.001
Délka druhého listu / M	2.05	0.080	82		
Délka pysku	4.89	< 0.001	85		
Šířka pysku	4.56	< 0.001	86		
Heslop-Harisonův index	1.20	0.315	84		
Index délky stř. úkrojku				6.89	0.229
Index šířky stř. úkrojku				16.63	0.005
Index hloubky zářezu				22.00	< 0.001

Tab. 5: Souhrn výsledků testu hierarchická ANOVA (případně Kruskal-Wallisova testu) pro srovnání taxonů *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii* v Moravskoslezských Beskydech. Při hodnocení vlivu populace se měnily stupně volnosti v závislosti na počtu vyloučených odlehých hodnot, jsou proto uvedeny pro každý znak zvlášť. Kruskal-Wallisův test byl použit pouze v případě nesplnění podmínek pro užití testu ANOVA a neposkytuje informaci o vlivu taxonu a populace. Zvýrazněny jsou signifikantní výsledky a také znaky, u nichž byl signifikantní vliv taxonu. Za signifikantní je považován výsledek $P \leq 0,050$.

	Vliv taxonu		Vliv populace			Kruskal-Wallis	
	F _{1,6}	P	F _{6,df}	P	df	H _(df=7)	P
Výška	0.05	0.827	7.28	< 0.001	123		
Počet listů	0.14	0.717	6.13	< 0.001	118		
Délka prvního listu	2.76	0.148	2.88	0.012	123		
Šířka prvního listu	1.82	0.226	4.06	< 0.001	122		
Úhel prvního listu	11.34	0.015	2.58	0.022	122		
Délka druhého listu	1.28	0.301	3.59	0.003	122		
Šířka druhého listu	3.04	0.132	2.70	0.017	121		
Úhel druhého listu						37.48	< 0.001
Výška / počet listů	0.49	0.511	2.22	0.046	120		
Výška / délka prvního listu						11.47	0.119
Výška / délka druhého listu	1.17	0.321	2.60	0.021	122		
Délka / šířka prvního listu	17.48	0.006	1.69	0.129	120		
Délka / šířka druhého listu	4.59	0.076	3.52	0.003	116		
Délka druhého listu / M						12.70	0.080
Délka pysku	0.62	0.462	2.46	0.028	121		
Šířka pysku	0.02	0.906	6.39	< 0.001	122		
Heslop-Harisonův index						16.80	0.019
Index délky stř. úkrojku	0.31	0.597	3.05	0.008	117		
Index šířky stř. úkrojku	0.03	0.879	1.85	0.095	122		
Index hloubky zářezu	2.36	0.175	1.70	0.128	114		

3.2.1 Výška

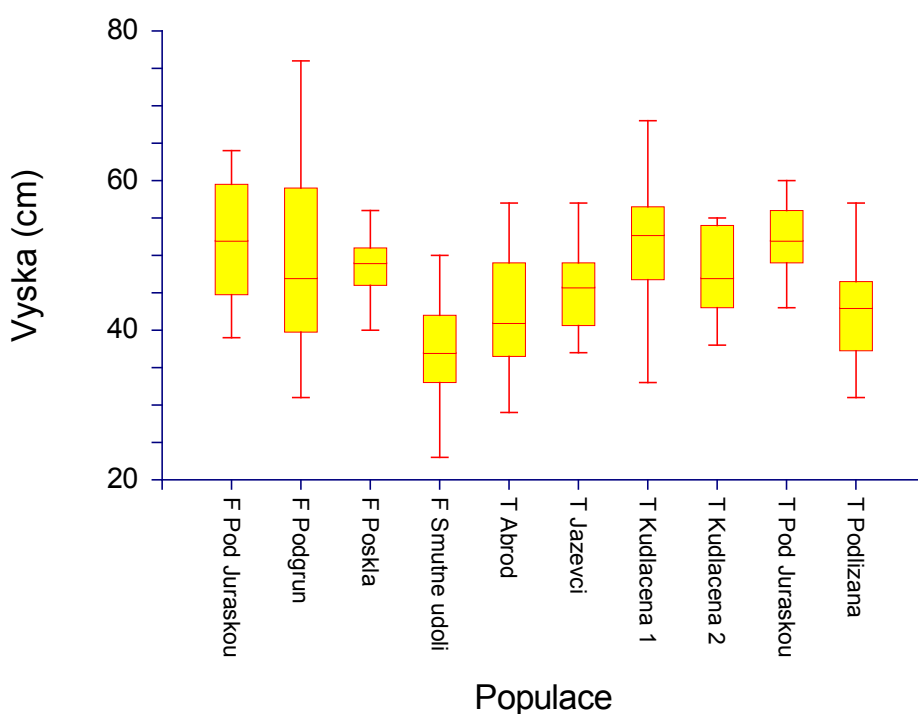
Byl zjištěn signifikantní rozdíl ve výšce mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($F_{5,87} = 5.10$, $P < 0.001$). Mnohonásobným porovnáním bylo zjištěno, že nejčastěji se odlišuje populace Pod Juráškou, kde jsou průměrně rostliny nejvyšší. Od některých populací se také odlišovala populace na lokalitě Podlízaná, kde jsou naopak rostliny v průměru nejmenší. Výsledky mnohonásobného porovnání mezi populacemi ukazuje tab. 6.

Mezi taxony nebyl statisticky významný rozdíl prokázán ($F_{1,6} = 0.05$, $P = 0.827$).

Tab. 7 popisuje variabilitu studovaných populací ve výšce rostlin. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 5).

Tab. 7: Základní statistické údaje o znaku „výška“ pro studované populace (v jednotkách cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	42.57	8.61	41.00	29	57
Jazevčí	transsilvanica	20	45.18	5.10	45.75	37	57
Kudlačena 1	transsilvanica	15	49.97	9.89	52.00	29	68
Kudlačena 2	transsilvanica	15	47.77	6.03	47.00	38	55
Pod Juráškou	transsilvanica	15	52.44	4.55	52.00	43	60
Podlízaná	transsilvanica	13	42.12	6.80	43.00	31	57
Podgrůň	fuchsii	25	50.00	12.04	47.00	31	76
Pod Juráškou	fuchsii	13	51.73	8.28	52.00	39	64
Poskla	fuchsii	20	49.22	5.27	49.50	40	62
Smutné údolí	fuchsii	15	36.80	7.55	37.00	23	50



Obr. 5: Krabičkový diagram znaku „výška“ pro studované populace.

Tab. 6: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „výška“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	ns	ns	ns	+	ns
Jazevčí	ns	-	ns	ns	+	ns
Kudlačena 1	ns	ns	-	ns	ns	+
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	+	+	ns	ns	-	+
Podlízaná	ns	ns	+	ns	+	-

3.2.2 Počet listů

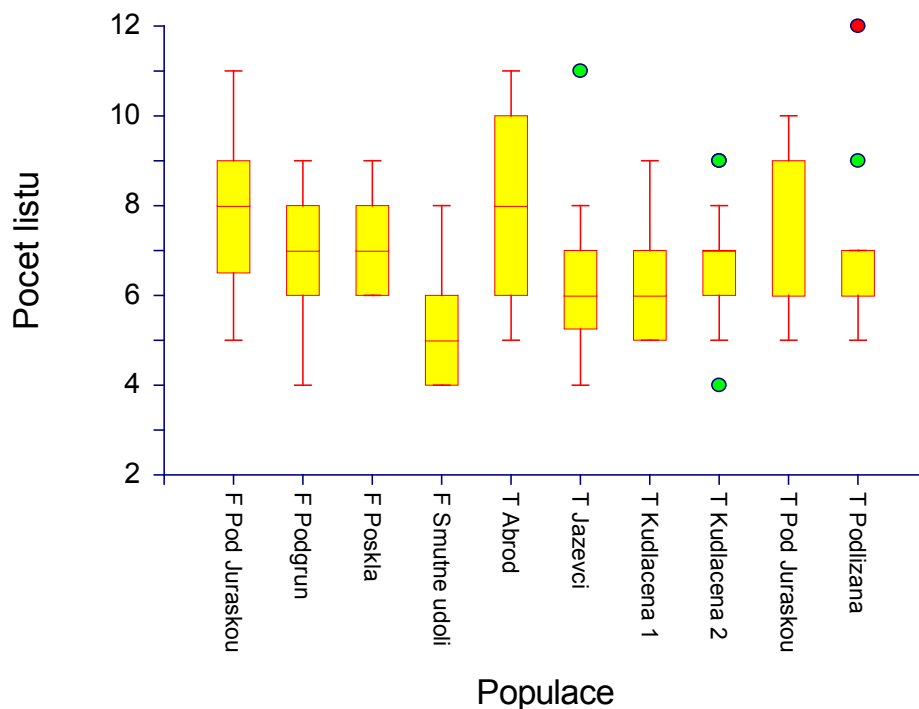
V počtu listů byl nalezen signifikantní rozdíl mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($F_{5,82} = 4.00$, $P = 0.003$). Mnohonásobným porovnáním bylo zjištěno, že od zbytku populací (s výjimkou populace Pod Juráškou) se výrazně odlišuje populace z lokality Abrod. Mezi ostatními populacemi nebyly signifikantní rozdíly zjištěny (viz tab. 8).

Mezi taxony rovněž nebyly rozdíly signifikantní ($F_{1,6} = 0.14$, $P = 0.717$).

Tab. 9 popisuje variabilitu studovaných populací v počtu listů. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 6).

Tab. 9: Základní statistické údaje o znaku „počet listů“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	7.87	1.88	8.00	5	11
Jazevčí	transsilvanica	20	6.35	1.50	6.00	4	11
Kudlačena 1	transsilvanica	15	6.27	1.28	6.00	5	9
Kudlačena 2	transsilvanica	15	6.67	1.40	7.00	4	9
Pod Juráškou	transsilvanica	15	7.00	1.51	6.00	5	10
Podlízaná	transsilvanica	13	6.92	1.80	6.00	5	12
Podgrůň	fuchsii	25	6.88	1.39	7.00	4	9
Pod Juráškou	fuchsii	13	7.77	1.69	8.00	5	11
Poskla	fuchsii	20	7.05	0.89	7.00	6	9
Smutné údolí	fuchsii	15	5.20	1.15	5.00	4	8



Obr. 6: Krabičkový diagram znaku „počet listů“ pro studované populace.

Tab. 8: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „počet listů“ .Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	+	+	+	ns	+
Jazevčí	+	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	ns	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	+	ns	ns	ns	ns	-

3.2.3 Délka prvního listu

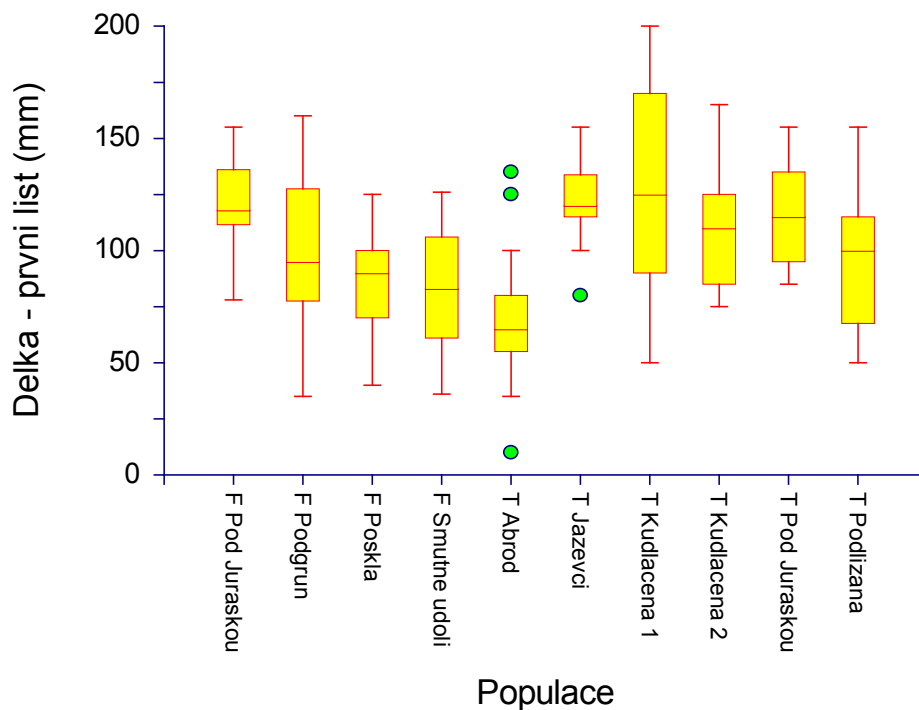
Jelikož nebyla splněna rovnost rozptylů, a data tak nesplňovala podmínky pro použití testu ANOVA, ke srovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test, jímž byl prokázán statistický rozdíl mezi některými populacemi ($H = 22.99$, $P < 0.001$, $df = 5$). K mnohonásobnému porovnání byl použit Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání. Bylo zjištěno, že populace na lokalitě Abrod se v tomto znaku odlišuje od všech ostatních populací kromě populace z lokality Podlízaná. Ta se naopak signifikantně odlišuje od populace na lokalitě Jazevčí. Mezi ostatními populacemi není statisticky významný rozdíl (viz tab. 10).

Při srovnávání taxonů již byly splněny podmínky pro použití testu ANOVA, avšak rozdíl mezi taxony nebyl prokázán ($F_{1,6} = 2.76$, $P = 0.148$).

Tab. 11 popisuje variabilitu studovaných populací v délce prvního listu. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 7).

Tab. 11: Základní statistické údaje o znaku „délka prvního listu“ pro studované populace (v jednotkách cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	6.87	3.28	6.50	1.0	13.5
Jazevčí	transsilvanica	20	12.30	1.80	12.00	8.0	15.5
Kudlačena 1	transsilvanica	15	12.10	4.76	12.50	5.0	20.0
Kudlačena 2	transsilvanica	15	10.90	2.67	11.00	7.5	16.5
Pod Juráškou	transsilvanica	15	11.50	2.20	11.50	8.5	15.5
Podlízaná	transsilvanica	13	9.65	3.08	10.00	5.0	15.5
Podgrůň	fuchsii	25	9.80	3.20	9.50	3.5	16.0
Pod Juráškou	fuchsii	13	11.92	2.26	11.80	7.8	15.5
Poskla	fuchsii	20	8.88	2.45	9.00	4.0	12.5
Smutné údolí	fuchsii	15	8.18	2.66	8.30	3.6	12.6



Obr. 7: Krabičkový diagram znaku „délka prvního listu“ pro studované populace.

Tab. 10: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „délka prvního listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráskou	Podlízaná
Abrod	-	+	+	+	+	ns
Jazevčí	+	-	ns	ns	ns	+
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráskou	+	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	ns	+	ns	ns	ns	-

3.2.4 Šířka prvního listu

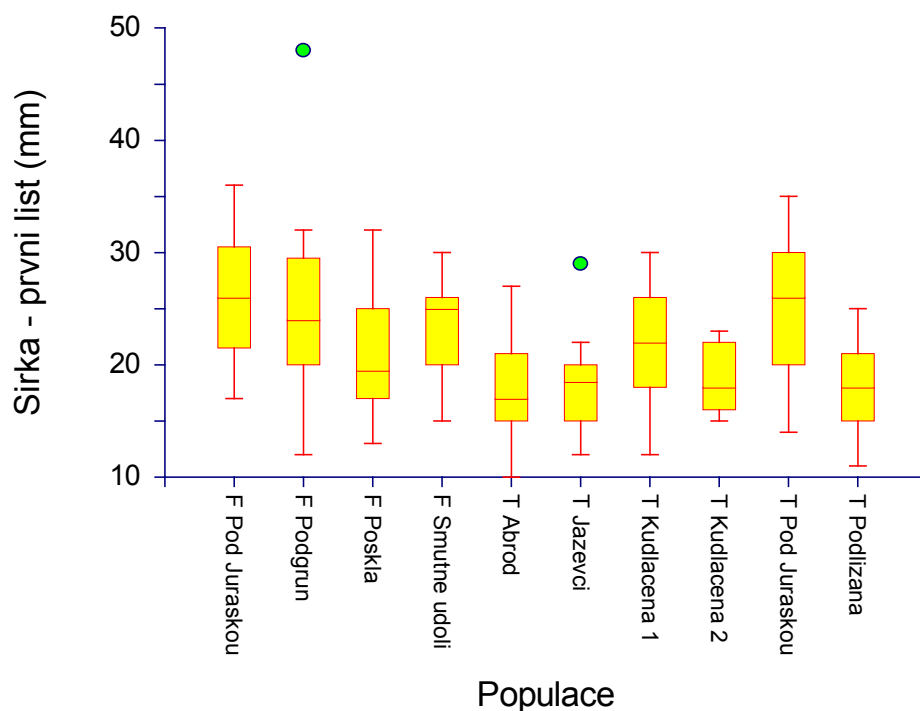
Jelikož nebyla splněna rovnost rozptylů, a data tak nesplňovala podmínky pro použití testu ANOVA, byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Byly zjištěny statisticky významné rozdíly v šířce prvního listu mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($H = 17.10$, $P = 0.004$, $df = 5$). Ke zjištění rozdílů mezi populacemi byl použit Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání. Nejčastěji se odlišovala populace z lokality Pod Juráskou, u které je průměrná šířka listu nejvyšší. Naopak nejužší listy mají rostliny na lokalitě Jazevčí, výsledek byl signifikantní ve dvou případech. Výsledek mnohonásobného porovnání viz tab. 12.

Při srovnávání taxonů již byly splněny podmínky pro použití testu ANOVA, avšak rozdíl mezi taxony nebyl prokázán ($F_{1,6} = 1.82$, $P = 0.226$).

Tab. 13 popisuje variabilitu studovaných populací v šířce prvního listu. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 8).

Tab. 13: Základní statistické údaje o znaku „šířka prvního listu“ pro studované populace (v jednotkách cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	1.82	0.45	1.70	1.0	2.7
Jazevčí	transsilvanica	20	1.80	0.39	1.85	1.2	2.9
Kudlačena 1	transsilvanica	15	2.09	0.56	2.20	1.2	3.0
Kudlačena 2	transsilvanica	15	1.90	0.29	1.80	1.5	2.3
Pod Jurášskou	transsilvanica	15	2.53	0.67	2.60	1.4	3.5
Podlízaná	transsilvanica	13	1.80	0.42	1.80	1.1	2.5
Podgrůň	fuchsii	25	2.49	0.74	2.40	1.2	4.8
Pod Jurášskou	fuchsii	13	2.58	0.57	2.60	1.7	3.6
Poskla	fuchsii	20	2.10	0.51	1.95	1.3	3.2
Smutné údolí	fuchsii	15	2.34	0.39	2.50	1.5	3.0



Obr. 8: Krabičkový diagram znaku „šířka prvního listu“ pro studované populace.

Tab. 12: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „šířka prvního listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	ns	ns	ns	+	ns
Jazevčí	ns	-	+	ns	+	ns
Kudlačena 1	ns	+	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	+	ns
Pod Juráškou	+	+	ns	+	-	+
Podlízaná	ns	ns	ns	ns	+	-

3.2.5 Úhel prvního listu

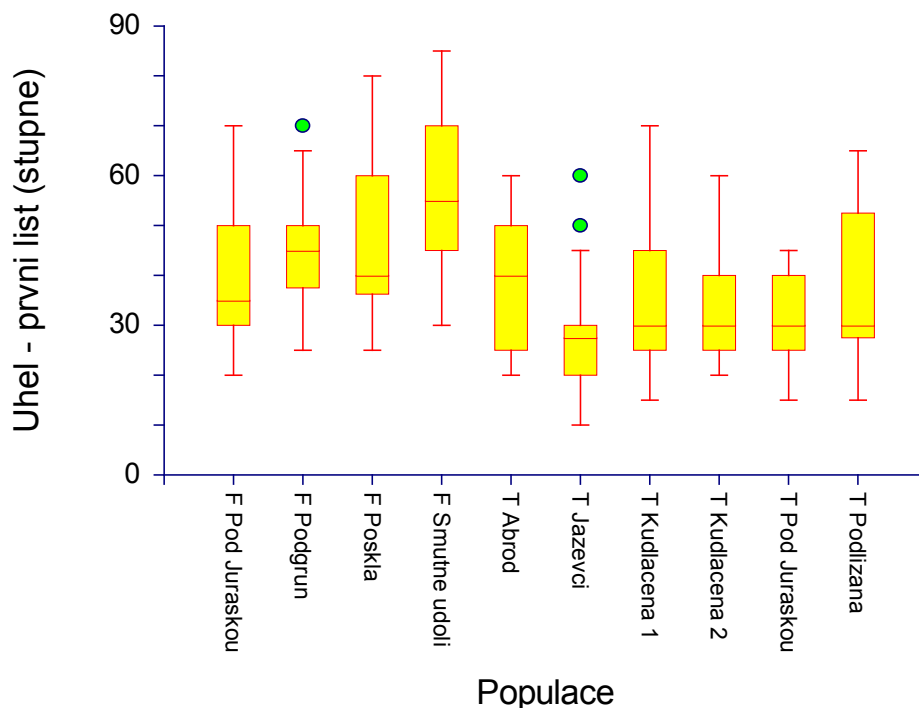
V úhlu prvního listu vůči lodyze byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($F_{5,85} = 2.71$, $P = 0.025$). Mnohonásobné porovnání ukázalo, že se od sebe statisticky odlišují pouze dvě populace, a to populace z lokality Abrod, kde byl zároveň úhel v průměru největší, a populace z lokality Jazevčí, kde byl průměrný úhel nejmenší (viz tab. 14).

V tomto znaku byla také zjištěna statisticky významná odlišnost mezi taxony ($F_{1,6} = 11.34$, $P = 0.015$).

Tab. 15 popisuje variabilitu studovaných populací v úhlu prvního listu. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 9).

Tab. 15: Základní statistické údaje o znaku „úhel prvního listu“ pro studované populace (ve stupních).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	41.00	13.91	40.00	20	60
Jazevčí	transsilvanica	20	28.50	11.93	27.50	10	60
Kudlačena 1	transsilvanica	15	35.33	17.06	30.00	15	70
Kudlačena 2	transsilvanica	15	34.00	10.72	30.00	20	60
Pod Juráškou	transsilvanica	15	32.00	9.60	30.00	15	45
Podlízaná	transsilvanica	13	36.92	16.01	30.00	15	65
Podgrůň	fuchsii	25	44.80	10.46	45.00	25	70
Pod Juráškou	fuchsii	13	41.92	15.35	35.00	20	70
Poskla	fuchsii	20	47.25	15.09	40.00	25	80
Smutné údolí	fuchsii	15	59.00	16.50	55.00	30	85



Obr. 9: Krabičkový diagram znaku „úhel prvního listu“ pro studované populace.

Tab. 14: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „úhel prvního listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráskou	Podlízaná
Abrod	-	+	ns	ns	ns	ns
Jazevčí	+	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	ns	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráskou	ns	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	ns	ns	ns	ns	ns	-

3.2.6 Délka druhého listu

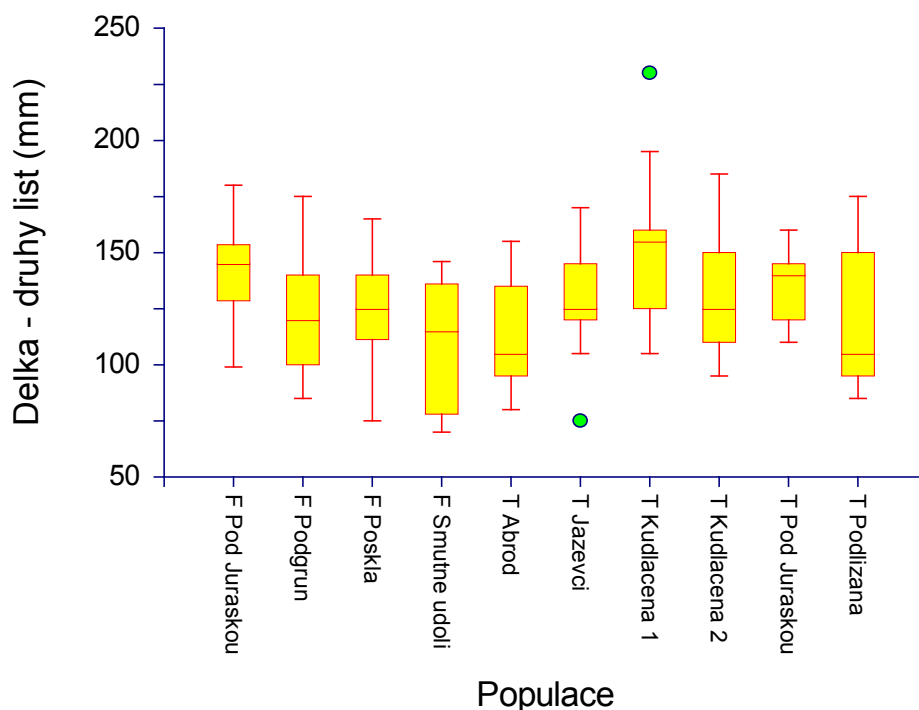
Byl zjištěn statisticky významný rozdíl v délce druhého listu mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($F_{5,85} = 3.61$, $P = 0.005$). Odlišnost byla prokázána mezi populacemi z lokalit Abrod (kde byl list v průměru nejkratší) a Kudlačena 1 (kde byl list v průměru nejdelší). Ostatní populace stojí svou variabilitou mezi nimi a nebyla u nich prokázána žádná odlišnost. Mnohonásobná porovnání viz tab. 16.

Mezi taxony nebyl rozdíl v délce listu signifikantní ($F_{1,6} = 1.28$, $P = 0.301$).

Tab. 17 popisuje variabilitu studovaných populací v délce druhého listu. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 10).

Tab. 17: Základní statistické údaje o znaku „délka druhého listu“ pro studované populace (v jednotkách cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	11.23	2.35	10.50	8.0	15.5
Jazevčí	transsilvanica	20	12.98	2.22	12.50	7.5	17.0
Kudlačena 1	transsilvanica	15	15.07	3.35	15.50	10.5	23.0
Kudlačena 2	transsilvanica	15	13.13	2.59	12.50	9.5	18.5
Pod Jurášskou	transsilvanica	15	13.53	1.46	14.00	11.0	16.0
Podlízaná	transsilvanica	13	11.88	3.13	10.50	8.5	17.5
Podgrůň	fuchsii	25	12.24	2.50	12.00	8.5	17.5
Pod Jurášskou	fuchsii	13	14.20	2.09	14.50	9.9	18.0
Poskla	fuchsii	20	12.50	2.12	12.50	7.5	16.5
Smutné údolí	fuchsii	15	10.79	2.84	11.50	7.0	14.6



Obr. 10: Krabičkový diagram znaku „délka druhého listu“ pro studované populace.

Tab. 16: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „délka druhého listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Jurášskou	Podlízaná
Abrod	-	ns	+	ns	ns	ns
Jazevčí	ns	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	ns	ns
Pod Jurášskou	ns	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	ns	ns	ns	ns	ns	-

3.2.7 Šířka druhého listu

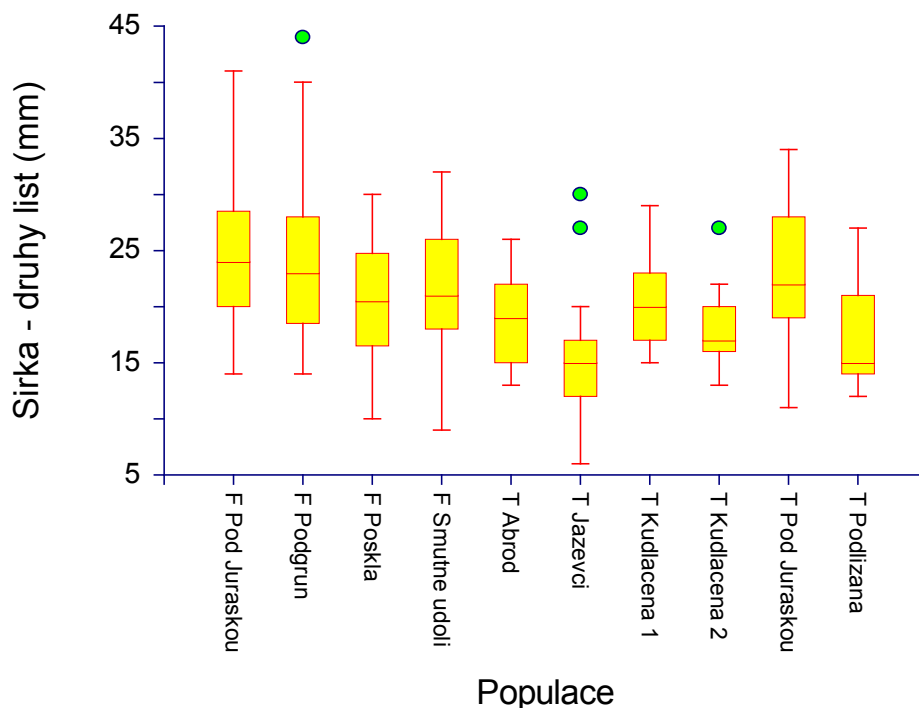
Mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byl zjištěn statisticky významný rozdíl v šířce druhého listu ($F_{5,84} = 7.28$, $P < 0.001$). Výrazně se odlišovala především populace na lokalitě Jazevčí, kde byl druhý list v průměru nejužší, a dále populace z lokality Pod Juráškou, kde byl naopak průměr největší. Ani jedna populace se však průkazně neodlišovala od všech ostatních populací (viz tab. 17).

Rozdíl v šířce druhého listu mezi taxony nebyl průkazný ($F_{1,6} = 3.04$, $P = 0.132$).

Tab. 18 popisuje variabilitu studovaných populací v šířce druhého listu. Graficky je jejich variabilita vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 11).

Tab. 18: Základní statistické údaje o znaku „šířka druhého listu“ pro studované populace (v jednotkách cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	1.87	0.39	1.90	1.3	2.6
Jazevčí	transsilvanica	20	1.56	0.56	1.50	0.6	3.0
Kudlačena 1	transsilvanica	15	2.03	0.37	2.00	1.5	2.9
Kudlačena 2	transsilvanica	15	1.79	0.36	1.70	1.3	2.7
Pod Juráškou	transsilvanica	15	2.26	0.64	2.20	1.1	3.4
Podlízaná	transsilvanica	13	1.72	0.47	1.50	1.2	2.7
Podgrůň	fuchsii	25	2.44	0.79	2.30	1.4	4.4
Pod Juráškou	fuchsii	13	2.48	0.70	2.40	1.4	4.1
Poskla	fuchsii	20	2.02	0.52	2.05	1.0	3.0
Smutné údolí	fuchsii	15	2.11	0.63	2.10	0.9	3.2



Obr. 11: Krabičkový diagram znaku „šířka druhého listu“ pro studované populace.

Tab. 17: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „šířka druhého listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	+	ns	ns	ns	ns
Jazevčí	+	-	+	ns	+	ns
Kudlačena 1	ns	+	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	+	ns
Pod Juráškou	ns	+	ns	+	-	+
Podlízaná	ns	ns	ns	ns	+	-

3.2.8 Úhel druhého listu

Mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v úhlu druhého listu vůči lodyze ($F_{5,86} = 1.74$, $P = 0.133$).

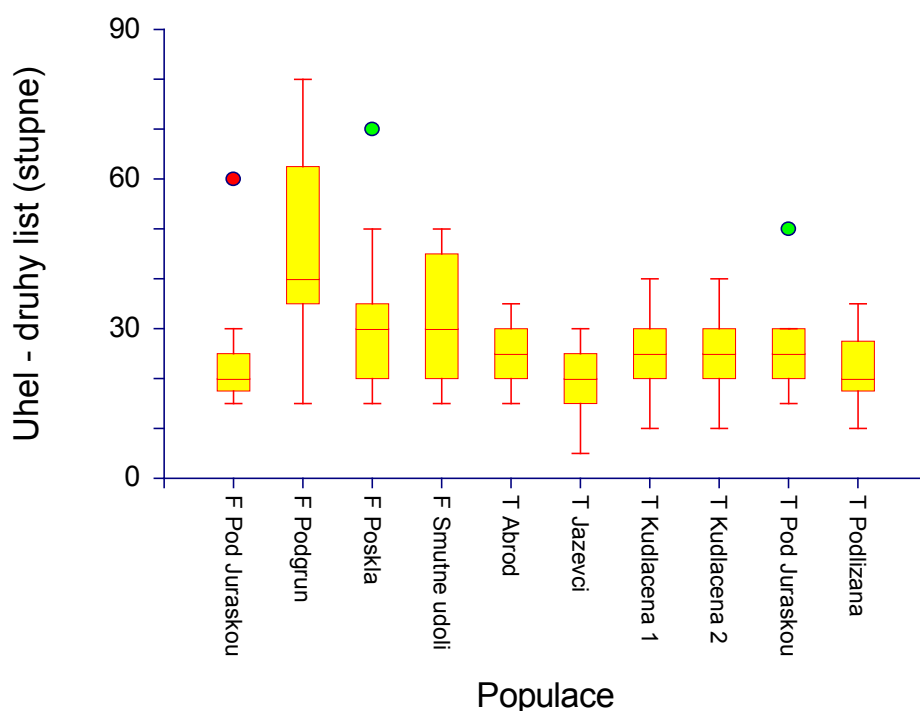
Data nesplňovala podmínky pro použití testu ANOVA ke zjištění rozdílu mezi taxony. Byl tedy zjišťován rozdíl mezi populacemi bez ohledu na taxon pomocí Kruskal-Wallisova testu a výsledek byl signifikantní ($H = 37.48$, $P < 0.001$, $df = 7$). Mnohonásobným porovnáním bylo zjištěno, že populace *D. fuchsii* na lokalitě Podgrůň se odlišuje od všech ostatních populací obou taxonů. Rostliny *D. fuchsii* z lokality Pod Juráškou byly signifikantně odlišné od všech ostatních populací *D. fuchsii*, avšak nelišily se v daném znaku od žádné

populace *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Dále byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi populacemi *D. fuchsii* (kromě lokality Pod Juráškou) a *D. maculata* subsp. *transsilvanica* z lokality Podlízaná, kde byl průměrný úhel druhého listu nejmenší ze srovnávaných populací. Výsledky testu mnohonásobného porovnání jsou zaznamenány v tab. 19.

Tab. 20 popisuje variabilitu studovaných populací ve znaku „úhel druhého listu“. Grafické znázornění variability populací v tomto znaku pomocí krabičkového diagramu viz obr. 12.

Tab. 20: Základní statistické údaje o znaku „úhel druhého listu“ pro studované populace (ve stupních).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	24.33	6.51	25.00	15	35
Jazevčí	transsilvanica	20	20.00	6.28	20.00	5	30
Kudlačena 1	transsilvanica	15	26.00	8.90	25.00	10	40
Kudlačena 2	transsilvanica	15	25.67	8.42	25.00	10	40
Pod Juráškou	transsilvanica	15	26.67	8.16	25.00	15	50
Podlízaná	transsilvanica	13	22.69	7.53	20.00	10	35
Podgrůň	fuchsii	25	45.60	16.79	40.00	15	80
Pod Juráškou	fuchsii	13	23.85	11.75	20.00	15	60
Poskla	fuchsii	20	31.00	12.31	30.00	15	70
Smutné údolí	fuchsii	15	32.33	12.23	30.00	15	50



Obr. 12: Krabičkový diagram znaku „úhel druhého listu“ pro studované populace.

3.2.9 Výška / počet listů

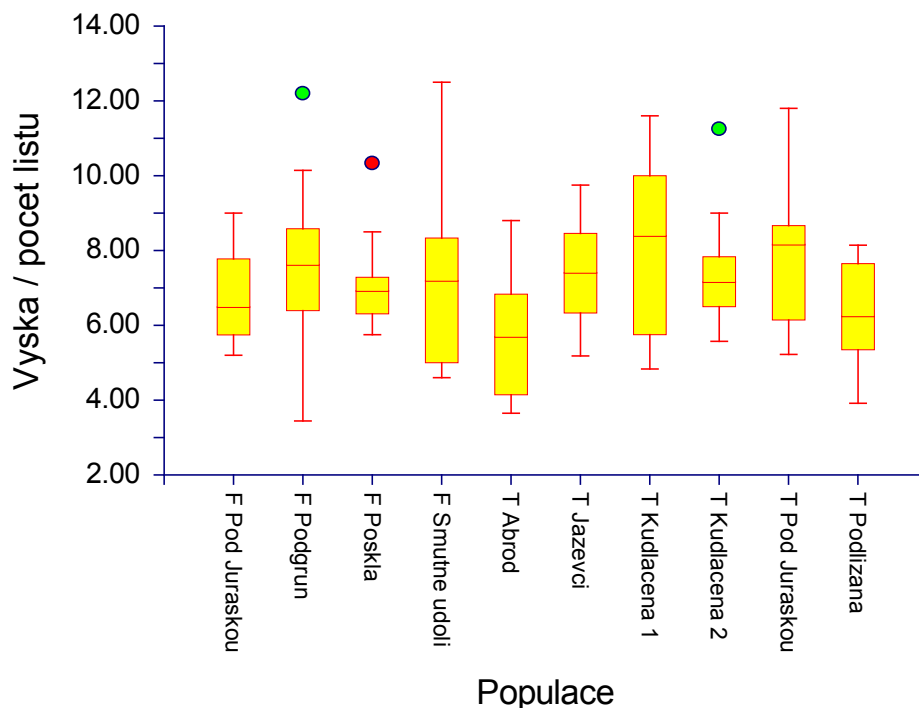
Mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byl zjištěn statisticky významný rozdíl v poměru výšky ku počtu listů ($F_{5,86} = 5.72$, $P < 0.001$). Nejčastěji byla odlišnost zaznamenána u populace z lokality Abrod, kde byl index nejnižší. Průkazný byl i rozdíl mezi populacemi na lokalitách Podlízaná a Kudlačena 1. Výsledky mnohonásobného porovnání viz tab. 21.

Rozdíl mezi taxony nebyl signifikantní ($F_{1,6} = 0.49$, $P = 0.511$).

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu výška / počet listů udává tab. 22. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 13).

Tab. 22: Základní statistické údaje o poměru „výška / počet listů“ pro studované populace. Index byl vypočítán z výšky v jednotkách cm.

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	5.63	1.46	5.70	3.65	8.80
Jazevčí	transsilvanica	20	7.35	1.32	7.41	5.18	9.75
Kudlačena 1	transsilvanica	15	8.25	2.20	8.40	4.83	11.60
Kudlačena 2	transsilvanica	15	7.38	1.41	7.17	5.57	11.25
Pod Juráškou	transsilvanica	15	7.80	1.74	8.17	5.22	11.80
Podlízaná	transsilvanica	13	6.31	1.34	6.25	3.92	8.14
Podgrůň	fuchsii	25	7.46	1.84	7.62	3.44	12.20
Pod Juráškou	fuchsii	13	6.82	1.21	6.50	5.20	9.00
Poskla	fuchsii	20	7.06	1.04	6.93	5.75	10.33
Smutné údolí	fuchsii	15	7.40	2.33	7.20	4.60	12.50



Obr. 13: Krabičkový diagram poměru „výška / počet listů“ pro studované populace. Index byl vypočítán z výšky v jednotkách cm.

Tab. 21: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro poměr „výška / počet listů“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	+	+	ns	+	ns
Jazevčí	+	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	ns	+
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	+	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	ns	ns	+	ns	ns	-

3.2.10 Index výška / délka prvního listu

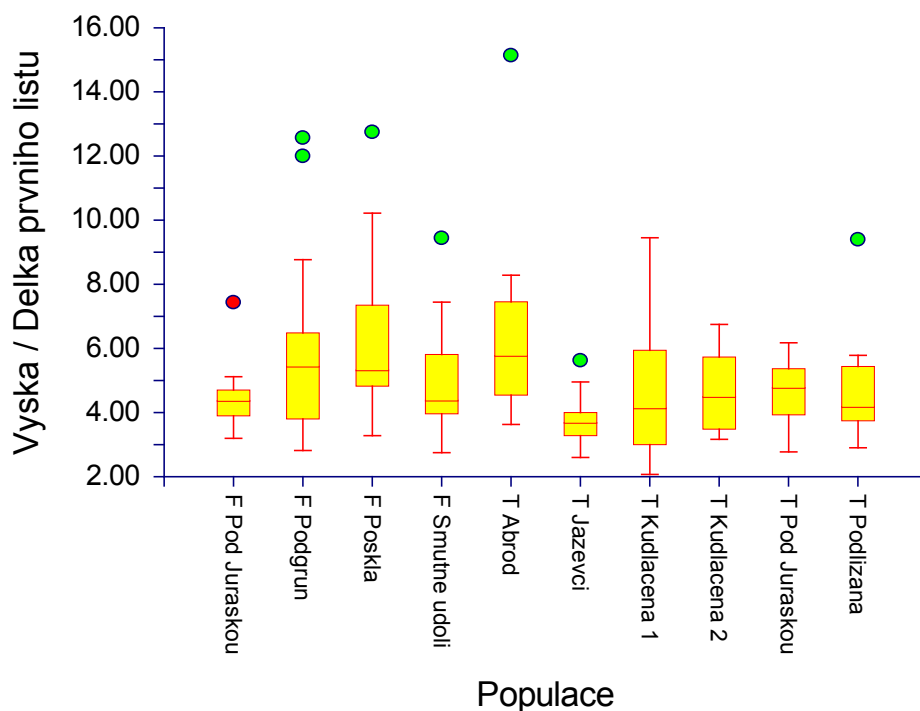
Jelikož nebyla splněna rovnost rozptylů ani požadavek na normální rozdělení dat, nebyly splněny podmínky pro užití testu ANOVA, a byl proto použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($H = 20.36$, $P = 0.001$, $df = 5$). K mnohonásobnému porovnání byl použit Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání. Nejvíce signifikantních výsledků bylo získáno u populace na lokalitě Abrod, kde je průměrný index nejvyšší. Signifikantní byla i většina výsledků pro populaci z lokality Jazevčí, kde naopak průměrný index nabývá nejnižších hodnot. Výsledky testu mnohonásobného porovnání viz tab.23.

Ani při testování vlivu taxonu na celkovou variabilitu data nespĺňovala podmínky užití testu ANOVA. Byl proto proveden neparametrický Kruskal-Wallisův test, ve kterém byly testovány populace bez ohledu na taxon. Výsledek testu nebyl signifikantní ($H = 11.47$, $P = 0.119$, $df = 7$), nebyl tedy prokázán žádný rozdíl mezi jakýmikoliv dvěma populacemi.

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu výška / délka prvního listu udává tab. 24. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 14).

Tab. 24: Základní statistické údaje o poměru „výška / délka prvního listu“ pro studované populace. Před vypočtením indexu byla data převedena na stejné jednotky (cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	9.82	13.34	5.87	3.63	57.00
Jazevčí	transsilvanica	20	3.76	0.74	3.69	2.60	5.62
Kudlačena 1	transsilvanica	15	4.87	2.37	4.14	2.07	9.45
Kudlačena 2	transsilvanica	15	4.61	1.20	4.50	3.17	6.75
Pod Jurášskou	transsilvanica	15	4.71	0.92	4.78	2.77	6.18
Podlízaná	transsilvanica	13	4.73	1.65	4.19	2.90	9.40
Podgrůň	fuchsii	25	5.70	2.48	5.44	2.82	12.57
Pod Jurášskou	fuchsii	13	4.46	1.05	4.38	3.20	7.44
Poskla	fuchsii	20	6.08	2.28	5.33	3.28	12.75
Smutné údolí	fuchsii	15	4.90	1.75	4.39	2.75	9.44



Obr. 14: Krabičkový diagram poměru „výška / délka prvního listu“ pro studované populace. Před vypočtením indexu byla data převedena na stejné jednotky (cm). Z grafického znázornění byla odstraněna extrémně odlehlá hodnota (index = 57) v populaci z lokality Abrod. Bylo tak učiněno za účelem zachování přehlednosti krabičkového diagramu.

Tab. 23: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro poměr „výška / délka prvního listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	+	+	+	ns	+
Jazevčí	+	-	ns	+	+	ns
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	+	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	ns	+	ns	ns	-	ns
Podlízaná	+	ns	ns	ns	ns	-

3.2.11 Index výška / délka druhého listu

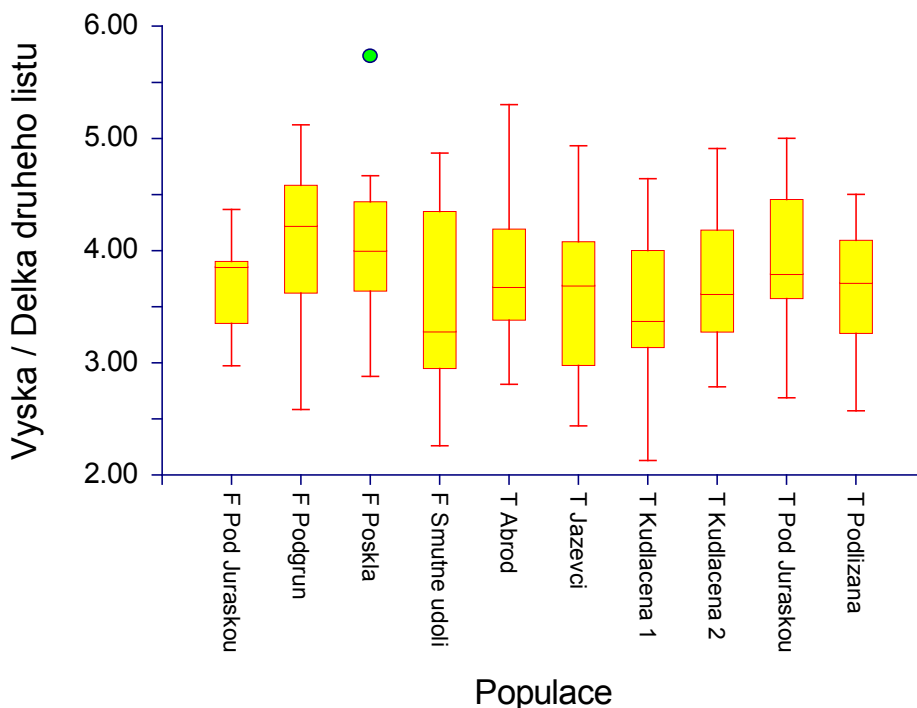
V poměru výšky ku délce druhého listu nebyl nalezen signifikantní rozdíl mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($F_{5,87} = 1.37$, $P = 0.245$).

Nebyl prokázán ani rozdíl mezi studovanými taxony ($F_{1,6} = 1.17$, $P = 0.321$).

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu výška / délka druhého listu udává tab. 25. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 15).

Tab. 25: Základní statistické údaje o poměru „výška / délka druhého listu“ pro studované populace. Před vypočtením indexu byla data převedena na stejné jednotky (cm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	3.84	0.61	3.68	2.81	5.30
Jazevčí	transsilvanica	20	3.58	0.67	3.69	2.44	4.93
Kudlačena 1	transsilvanica	15	3.39	0.70	3.38	2.13	4.64
Kudlačena 2	transsilvanica	15	3.72	0.63	3.62	2.79	4.91
Pod Juráškou	transsilvanica	15	3.92	0.59	3.79	2.69	5.00
Podlízaná	transsilvanica	13	3.65	0.56	3.71	2.57	4.50
Podgrůň	fuchsii	25	4.11	0.62	4.22	2.58	5.12
Pod Juráškou	fuchsii	13	3.65	0.41	3.86	2.97	4.37
Poskla	fuchsii	20	4.02	0.62	4.00	2.88	5.73
Smutné údolí	fuchsii	15	3.54	0.80	3.28	2.26	4.87



Obr. 15: Krabičkový diagram poměru „výška / délka druhého listu“ pro studované populace. Před vypočtením indexu byla data převedena na stejné jednotky (cm).

3.2.12 Index délka / šířka prvního listu

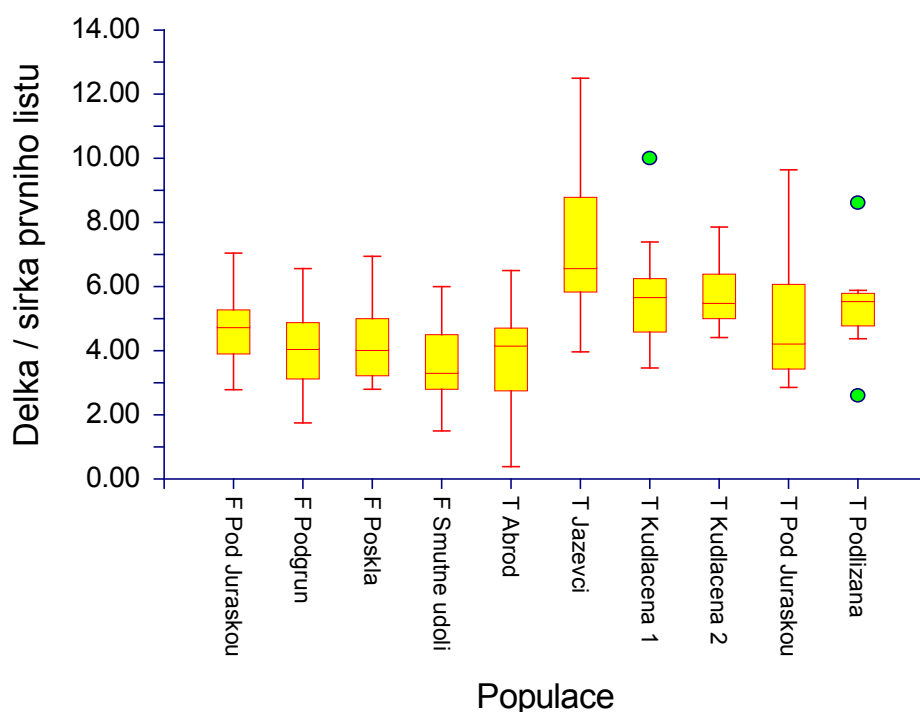
Jelikož nebyl splněn požadavek na normální rozdělení dat, a nebyla tak splněna podmínka pro použití testu ANOVA, byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test, jímž byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($H = 26.31$, $P < 0.001$, $df = 5$). Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání ukázal, že populace na lokalitě Jazevčí se významně odlišuje od všech ostatních populací. V této populaci je průměrný index nejvyšší. Ve většině srovnání byl výsledek významný také pro populaci na lokalitě Abrod, kde je naopak tento index poměrně nízký. Výsledky mnohonásobného porovnání viz tab. 26.

Signifikantní byl i výsledek hierarchické ANOVy pro zjištění rozdílů mezi taxony ($F_{1,6} = 17.48$, $P = 0.006$) a vliv taxonu na celkovou variabilitu byl větší než vliv populací.

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu délka / šířka prvního listu udává tab. 27. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (viz obr. 16).

Tab. 27: Základní statistické údaje o poměru „délka / šířka prvního listu“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	3.91	1.68	4.17	0.38	6.50
Jazevčí	transsilvanica	20	7.16	2.11	6.58	3.97	12.50
Kudlačena 1	transsilvanica	15	5.69	1.58	5.68	3.46	10.00
Kudlačena 2	transsilvanica	15	5.74	1.10	5.50	4.41	7.86
Pod Juráškou	transsilvanica	15	4.96	1.98	4.23	2.86	9.64
Podlízaná	transsilvanica	13	5.40	1.32	5.55	2.60	8.61
Podgrůň	fuchsii	25	4.04	1.22	4.06	1.75	6.56
Pod Juráškou	fuchsii	13	4.78	1.22	4.74	2.79	7.05
Poskla	fuchsii	20	4.30	1.19	4.03	2.80	6.94
Smutné údolí	fuchsii	15	3.55	1.18	3.32	1.50	6.00



Obr. 16: Krábčkový diagram poměru „délka / šířka prvního listu“ pro studované populace.

Tab. 26: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro poměr „délka / šířka prvního listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	+	+	+	ns	ns
Jazevčí	+	-	+	+	+	+
Kudlačena 1	+	+	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	+	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	ns	+	ns	ns	-	ns
Podlízaná	ns	+	ns	ns	ns	-

3.2.13 Index délka / šířka druhého listu

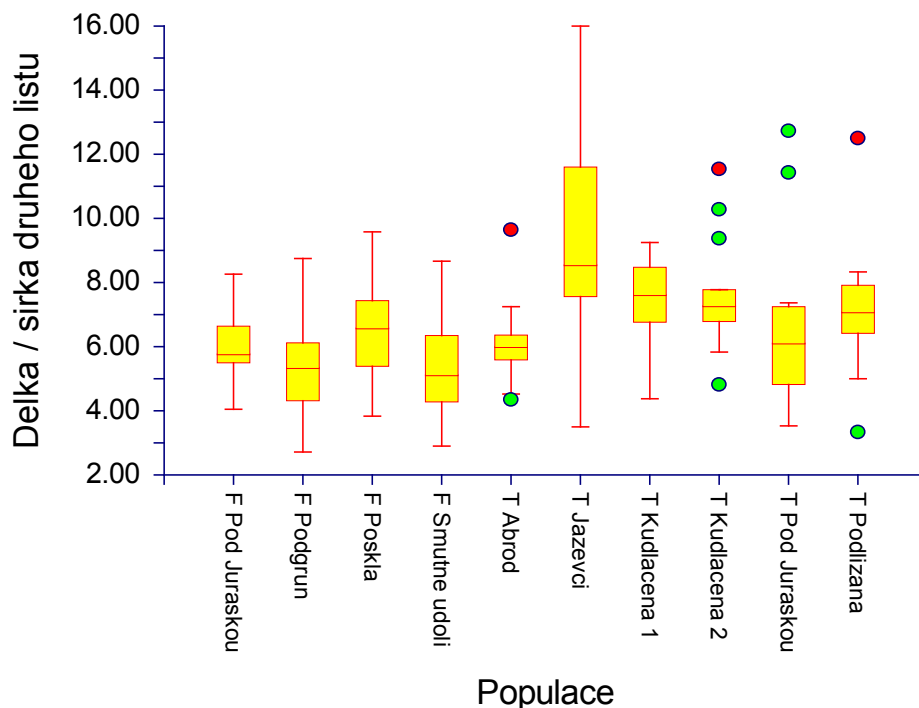
Jelikož nebyla splněna rovnost rozptylů ani požadavek na normální rozdělení dat, nebyly splněny podmínky pro užití testu ANOVA, a pro testování rozdílů mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byl proto použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Výsledek byl signifikantní ($H = 33.99$, $P < 0.001$, $df = 5$). K mnohonásobnému porovnání byl použit Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání. Nejvíce signifikantních výsledků bylo zjištěno pro lokalitu Jazevčí s vysokým průměrným indexem. Signifikantní výsledky byly ovšem získány i pro populace na lokalitách Abrod a Pod Juráškou, jejichž průměrný index je v porovnání s ostatními populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* menší. Výsledek mnohonásobného porovnání viz tab. 28.

Populace srovnávané při testování rozdílů mezi taxony již splňovaly podmínky pro užití parametrického testu ANOVA. Jeho výsledek nebyl signifikantní ($F_{1,6} = 4.59$, $P = 0.076$).

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu délka / šířka druhého listu udává tab. 29. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (viz obr. 17).

Tab. 29: Základní statistické údaje o poměru „délka / šířka druhého listu“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	\bar{X}	\pm s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	6.13	1.21	6.00	4.35	9.64
Jazevčí	transsilvanica	20	9.17	2.99	8.55	3.50	16.00
Kudlačena 1	transsilvanica	15	7.47	1.25	7.62	4.38	9.25
Kudlačena 2	transsilvanica	15	7.52	1.72	7.27	4.81	11.54
Pod Juráškou	transsilvanica	15	6.60	2.55	6.11	3.53	12.73
Podlízaná	transsilvanica	13	7.20	2.09	7.08	3.33	12.50
Podgrůň	fuchsii	25	5.38	1.51	5.34	2.71	8.75
Pod Juráškou	fuchsii	13	5.97	1.66	5.77	4.05	8.26
Poskla	fuchsii	20	6.50	1.55	6.58	3.83	9.58
Smutné údolí	fuchsii	15	5.39	1.61	5.12	2.90	8.67



Obr. 17: Krabičkový diagram poměru „délka / šířka druhého listu“ pro studované populace.

Tab. 28: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro poměr „délka / šířka druhého listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	+	+	+	ns	+
Jazevčí	+	-	ns	+	+	+
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	+	ns
Kudlačena 2	+	+	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	ns	+	+	ns	-	+
Podlízaná	+	+	ns	ns	+	-

3.2.14 Index délka druhého listu / vzdálenost nejširšího místa druhého listu od báze tohoto listu (délka druhého listu / M)

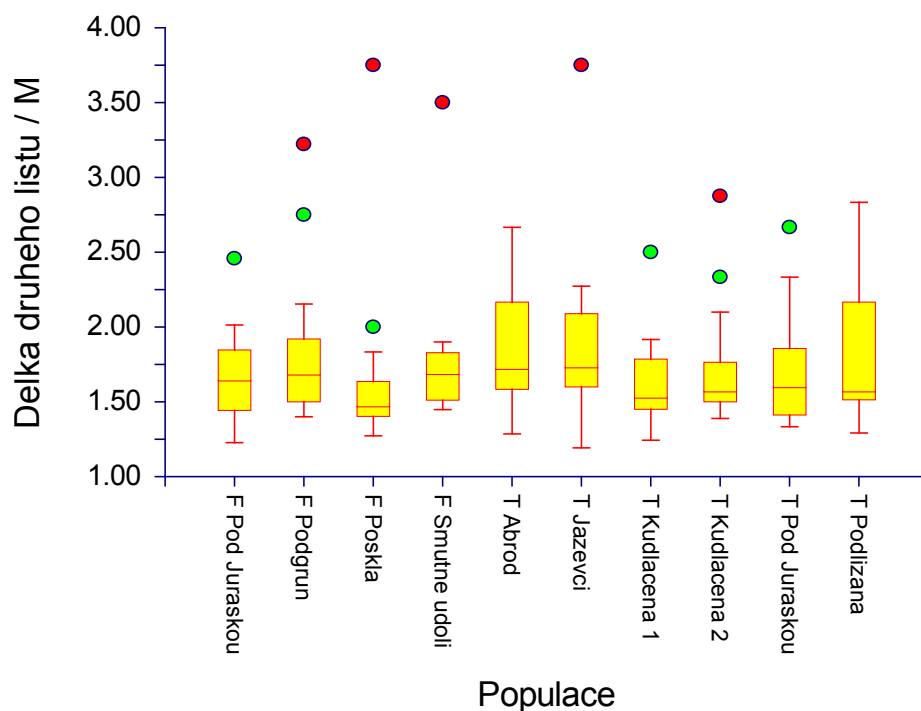
Výsledek testu ANOVA mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* v indexu délky ku vzdálenosti nejširšího místa od báze druhého listu nebyl signifikantní ($F_{5,82} = 2.05$, $P = 0.080$).

Data sloužící ke zjišťování rozdílů mezi taxony nespĺňovala podmínky pro použití hierarchické ANOVy. Byl na ně proto aplikován Kruskal-Wallisův neparametrický test a jeho výsledek nebyl signifikantní ($H = 12.70$, $P = 0.080$, $df = 5$). Nebyly zjištěny rozdíly mezi žádnými dvěma populacemi.

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu délka / vzdálenost nejbližšího místa od báze druhého listu udává tab. 30. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (obr.18).

Tab. 30: Základní statistické údaje o poměru „délka / vzdálenost nejbližšího místa od báze druhého listu“ pro studované populace.

lokalita	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	1.85	0.38	1.72	1.29	2.67
Jazevčí	transsilvanica	20	1.87	0.53	1.73	1.19	3.75
Kudlačena 1	transsilvanica	15	1.61	0.31	1.53	1.24	2.50
Kudlačena 2	transsilvanica	15	1.74	0.40	1.57	1.39	2.88
Pod Juráškou	transsilvanica	15	1.73	0.38	1.60	1.33	2.67
Podlízaná	transsilvanica	13	1.81	0.49	1.57	1.29	2.83
Podgrůň	fuchsii	25	1.80	0.42	1.68	1.40	3.22
Pod Juráškou	fuchsii	13	1.68	0.32	1.64	1.23	2.46
Poskla	fuchsii	20	1.63	0.53	1.47	1.27	3.75
Smutné údolí	fuchsii	15	1.76	0.50	1.69	1.45	3.50



Obr. 18: Krabičkový diagram poměru „délka / vzdálenost nejbližšího místa od báze druhého listu“ pro studované populace.

3.2.15 Délka pysku (hodnota A)

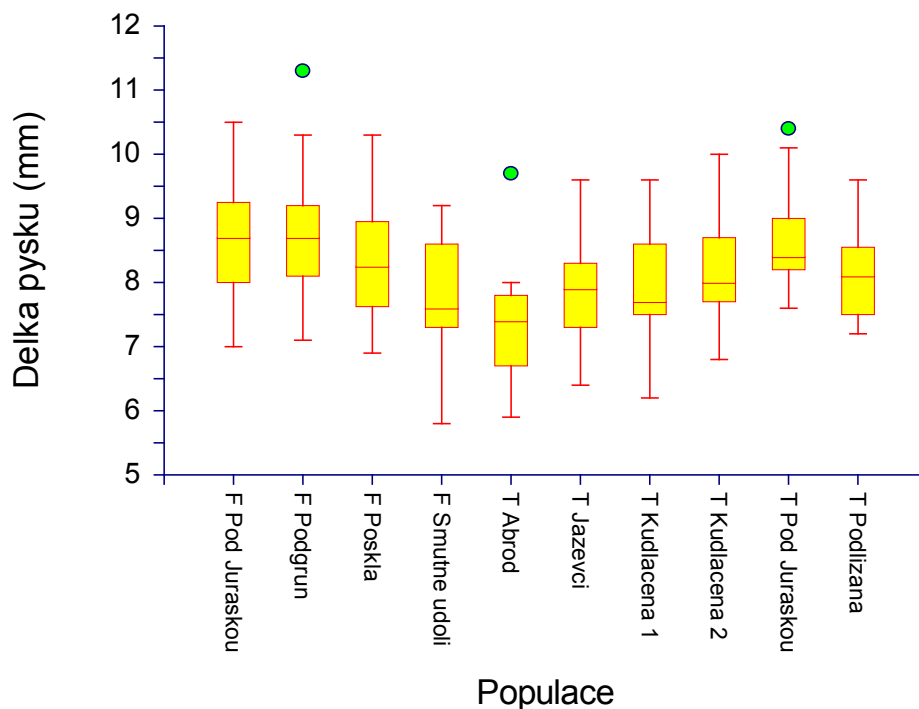
V délce pysku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ($F_{5,85} = 4.89$, $P < 0.001$). Mnohonásobným porovnáním byly zjištěny rozdíly mezi populací na lokalitě Abrod a některými dalšími populacemi, což bylo způsobeno poněkud menší délkou pysku u abrodské populace (viz tab. 31).

Mezi taxony byl rozdíl v tomto znaku nesignifikantní ($F_{1,6} = 0.62$, $P = 0.462$).

Variabilitu populací v délce pysku popisuje tab. 32. Graficky je znázorněna na obr. 19.

Tab. 32: Základní statistické údaje o znaku „délka pysku“ pro studované populace (v jednotkách mm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	7.33	0.87	7.40	5.9	9.7
Jazevčí	transsilvanica	20	7.83	0.84	7.90	6.4	9.6
Kudlačena 1	transsilvanica	15	7.89	0.98	7.70	6.2	9.6
Kudlačena 2	transsilvanica	15	8.19	0.81	8.00	6.8	10.0
Pod Juráškou	transsilvanica	15	8.65	0.80	8.40	7.6	10.4
Podlízaná	transsilvanica	13	8.08	0.68	8.10	7.2	9.6
Podgrůň	fuchsii	25	8.68	0.97	8.70	7.1	11.3
Pod Juráškou	fuchsii	13	8.64	0.89	8.70	7.0	10.5
Poskla	fuchsii	20	8.36	0.96	8.25	6.9	10.3
Smutné údolí	fuchsii	15	7.75	0.88	7.60	5.8	9.2



Obr. 19: Krabičkový diagram znaku „délka pysku“ pro studované populace.

Tab. 31: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „délka pysku“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jzevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	ns	ns	+	+	+
Jzevčí	ns	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	ns	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	+	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	+	ns	ns	ns	ns	-

3.2.16 Šířka pysku (hodnota F)

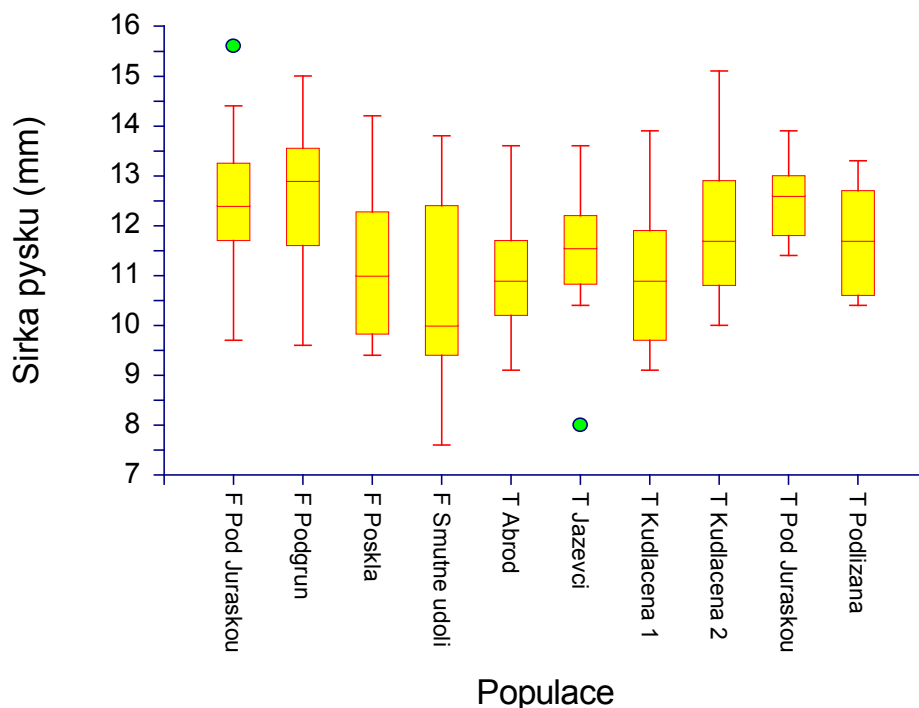
Mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byl zjištěn statisticky významný rozdíl v šířce pysku ($F_{5,86} = 4.56$, $P < 0.001$). Test mnohonásobného porovnání ukázal, že signifikantnost výsledku byla způsobena populací na lokalitě Pod Juráškou, jejíž průměrná šířka pysku byla největší a která se díky tomu signifikantně odlišovala od dvou populací s nejmenší průměrnou hodnotou šířky pysku, tedy od lokality Abrod a Kudlačena 1. Výsledek testu mnohonásobného porovnání viz tab. 33.

Pro taxony nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v šířce pysku ($F_{1,6} = 0.02$, $P = 0.906$).

Variabilitu populací v šířce pysku popisuje tab. 34. Graficky je znázorněna na obr. 20.

Tab. 34: Základní statistické údaje o znaku „šířka pysku“ pro studované populace (v jednotkách mm).

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	11.00	1.12	10.90	9.1	13.6
Jzevčí	transsilvanica	20	11.46	1.16	11.55	8.0	13.6
Kudlačena 1	transsilvanica	15	10.95	1.32	10.90	9.1	13.9
Kudlačena 2	transsilvanica	15	12.03	1.36	11.70	10.0	15.1
Pod Juráškou	transsilvanica	15	12.51	0.72	12.60	11.4	13.9
Podlízaná	transsilvanica	13	11.66	1.06	11.70	10.4	13.3
Podgrůň	fuchsii	25	12.60	1.32	12.90	9.6	15.0
Pod Juráškou	fuchsii	13	12.45	1.51	12.40	9.7	15.6
Poskla	fuchsii	20	11.18	1.42	11.00	9.4	14.2
Smutné údolí	fuchsii	15	10.59	1.76	10.00	7.6	13.8



Obr. 20: Krabičkový diagram znaku „šířka pysku“ pro studované populace.

Tab. 33: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „šířka pysku“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráškou	Podlízaná
Abrod	-	ns	ns	ns	+	ns
Jazevčí	ns	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	ns	ns	-	ns	+	ns
Kudlačena 2	ns	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráškou	+	ns	+	ns	-	ns
Podlízaná	ns	ns	ns	ns	ns	-

3.2.17 Heslop-Harisonův index (2A) / (B+C)

Mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v hodnotě Heslop-Harisonova indexu ($F_{5,84} = 1.20$, $P = 0.315$).

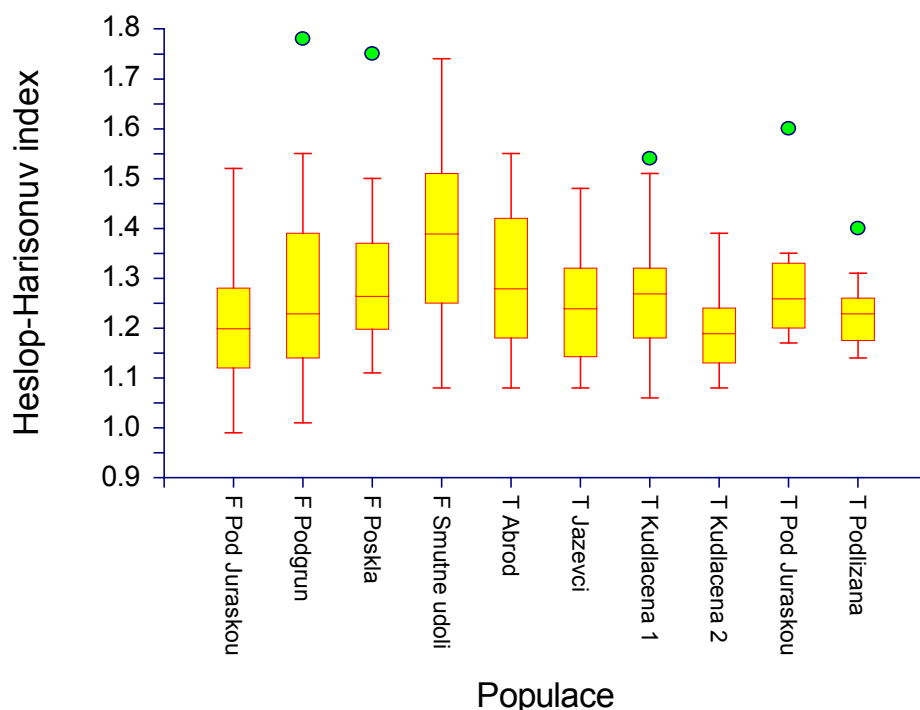
Nebyly splněny podmínky pro užití testu ANOVA ke zjištění rozdílu mezi taxony. Data byla proto testována Kruskal-Wallisovým testem bez ohledu na taxon a výsledek byl signifikantní ($H = 16.80$, $P = 0.019$, $df = 7$). Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že nejvýrazněji se od ostatních populací odlišuje populace *D. fuchsii* z lokality Smutné údolí. Výsledek byl pro tuto populaci signifikantní v porovnání se všemi ostatními populacemi kromě lokality Poskla, jejíž průměrná hodnota tohoto indexu je druhá nejvyšší.

Obě tyto populace se pak významně odlišovaly od populace z lokality Kudlačena 2, kde dosahoval index nejnižší průměrné hodnoty. Výsledky testu mnohonásobného porovnání viz tab. 35.

Charakteristiku jednotlivých populací podle Heslop-Harisonova indexu udává tab. 36. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabčkovým diagramem (obr. 21).

Tab. 36: Základní statistické údaje o znaku „Heslop-Harisonův index“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	1.28	0.13	1.28	1.08	1.55
Jazevčí	transsilvanica	20	1.25	0.11	1.24	1.08	1.48
Kudlačena 1	transsilvanica	15	1.27	0.13	1.27	1.06	1.54
Kudlačena 2	transsilvanica	15	1.20	0.10	1.19	1.08	1.39
Pod Jurášskou	transsilvanica	15	1.28	0.11	1.26	1.17	1.60
Podlízaná	transsilvanica	13	1.23	0.07	1.23	1.14	1.40
Podgrůň	fuchsii	25	1.28	0.19	1.23	1.01	1.78
Pod Jurášskou	fuchsii	13	1.22	0.14	1.20	0.99	1.52
Poskla	fuchsii	20	1.30	0.15	1.26	1.11	1.75
Smutné údolí	fuchsii	15	1.39	0.17	1.39	1.08	1.74



Obr. 21: Krabčkový diagram znaku „Heslop-Harisonův index“ pro studované populace.

3.2.18 Index délky středního úkroju pysku (A/D)

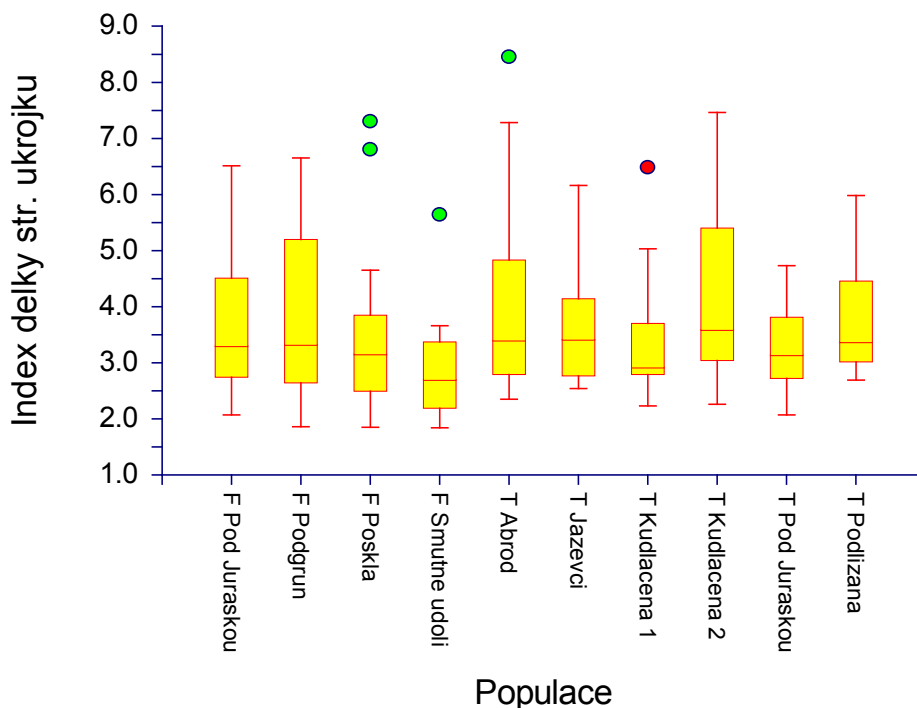
Jelikož nebyl splněn požadavek na normální rozdělení dat, a nebyla tak splněna podmínka pro použití testu ANOVA, byl ke srovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Jeho výsledek nebyl signifikantní ($H = 6.89$, $P = 0.229$, $df = 5$).

Přítomnost rozdílu mezi taxony byla testována parametrickým testem hierarchická ANOVA a jeho výsledek rovněž nebyl signifikantní ($F_{1,6} = 0.31$, $P = 0.597$).

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu délky středního úkroju udává tab. 37. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (viz obr. 22).

Tab. 37: Základní statistické údaje o znaku „index délky středního úkroju pysku“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	\bar{X}	\pm s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	4.14	1.78	3.40	2.35	8.45
Jazevčí	transsilvanica	20	3.65	1.06	3.42	2.54	6.16
Kudlačena 1	transsilvanica	15	3.36	1.13	2.92	2.23	6.48
Kudlačena 2	transsilvanica	15	4.11	1.58	3.59	2.26	7.46
Pod Jurášskou	transsilvanica	15	3.22	0.70	3.14	2.07	4.73
Podlízaná	transsilvanica	13	3.69	0.99	3.37	2.69	5.98
Podgrůň	fuchsii	25	4.44	3.65	3.34	1.86	20.61
Pod Jurášskou	fuchsii	13	4.52	3.20	3.63	2.07	14.31
Poskla	fuchsii	20	3.46	1.41	3.16	1.85	7.30
Smutné údolí	fuchsii	15	2.89	0.95	2.70	1.84	5.64



Obr. 22: Krabičkový diagram znaku „index délky středního úkrojků pysku“ pro studované populace. Z grafického znázornění byla odstraněna extrémně odlehlá hodnota v populaci *D. fuchsii* z lokality Pod Juráskou (index = 14.31) a z lokality Podgrůň (index = 20.61). Bylo tak učiněno za účelem zachování přehlednosti krabičkového diagramu.

3.2.19 Index šířky středního úkrojků pysku (F/E)

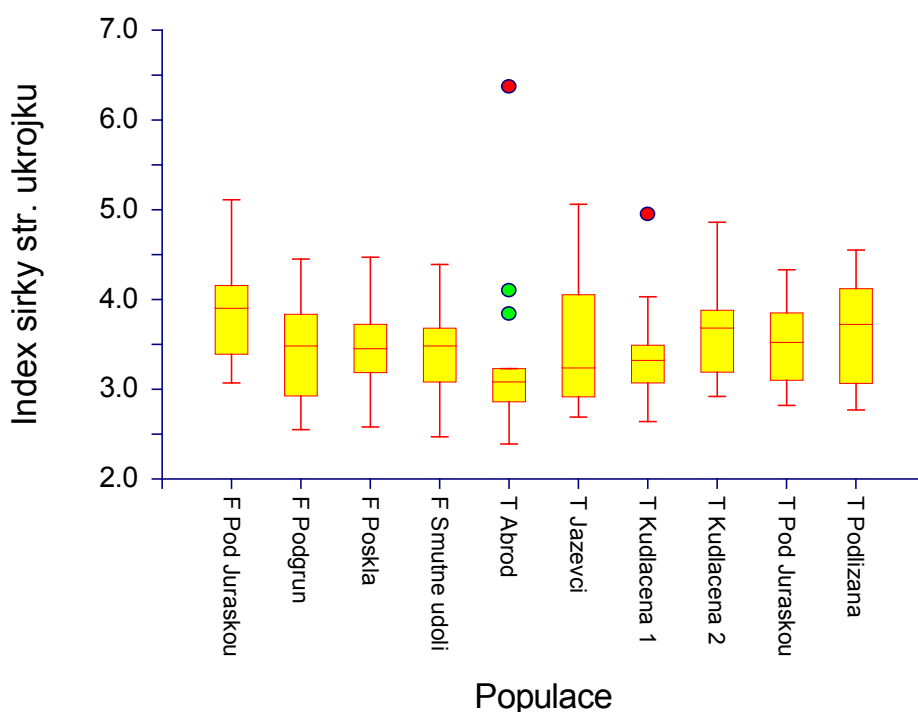
Jelikož nebyla splněna rovnost rozptylů a data tak nespĺňovala podmínky pro použití testu ANOVA, byl pro srovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Jeho výsledek byl signifikantní ($H = 16.63$, $P = 0.005$, $df = 5$). K mnohonásobnému porovnání byl použit Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání, jímž bylo zjištěno, že od ostatních populací se výrazněji odlišuje populace z lokality Abrod, pro níž byl signifikantní výsledek porovnání se všemi dalšími populacemi kromě populace na lokalitě Kudlačena 1 (viz tab. 38).

Rozdíl mezi taxony v daném znaku mohl být testován parametrickým testem a jeho výsledek nebyl signifikantní ($F_{1,6} = 0.03$, $P = 0.879$).

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu šířky středního úkrojků udává tab. 39. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (viz obr. 23).

Tab. 39: Základní statistické údaje o znaku „index šířky středního úkroju pysku“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	3.29	0.96	3.09	2.39	6.37
Jazevčí	transsilvanica	20	3.52	0.68	3.24	2.69	5.06
Kudlačena 1	transsilvanica	15	3.38	0.59	3.33	2.64	4.95
Kudlačena 2	transsilvanica	15	3.67	0.55	3.69	2.92	4.86
Pod Jurášskou	transsilvanica	15	3.52	0.44	3.53	2.82	4.33
Podlízaná	transsilvanica	13	3.61	0.57	3.73	2.77	4.55
Podgrůň	fuchsii	25	3.47	0.57	3.49	2.55	4.45
Pod Jurášskou	fuchsii	13	3.85	0.55	3.91	3.07	5.11
Poskla	fuchsii	20	3.48	0.47	3.46	2.58	4.47
Smutné údolí	fuchsii	15	3.44	0.52	3.49	2.47	4.39



Obr. 23: Krabičkový diagram znaku „index šířky středního úkroju pysku“ pro studované populace.

Tab. 38: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „index šířky středního úkroju pysku“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Jurášskou	Podlízaná
Abrod	-	+	ns	+	+	+
Jazevčí	+	-	ns	ns	ns	ns
Kudlačena 1	ns	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	ns	ns	-	ns	ns
Pod Jurášskou	+	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	+	ns	ns	ns	ns	-

3.2.20 Index hloubky zářezu pysku B / (B-C)

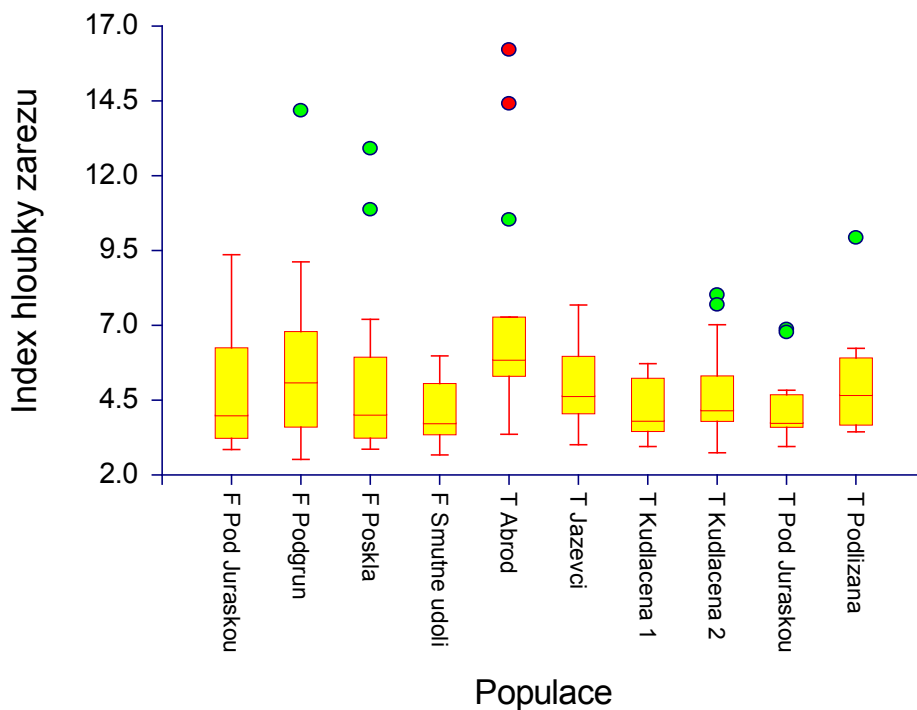
Jelikož nebyl splněn požadavek na normální rozdělení dat, a nebyla tak splněna podmínka pro použití testu ANOVA, pro testování rozdílů mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Výsledek byl signifikantní ($H = 22.00$, $P < 0.001$, $df = 5$). K mnohonásobnému porovnání byl použit Kruskal-Wallisův test mnohonásobného porovnání. Byly zjištěny statisticky významné rozdíly především mezi populací z lokality Abrod a většinou ostatních populací. Populace z lokality Pod Juráškou s nejmenší průměrnou hodnotou indexu se lišila od dvou populací s nejvyšším průměrem indexu (Abrod, Jazevčí). Výsledky testu mnohonásobného porovnání viz tab. 40.

Pro zjištění rozdílu mezi taxony byly splněny podmínky užití parametrického testu. Jeho výsledek nebyl signifikantní ($F_{1,6} = 2.36$, $P = 0.175$).

Charakteristiku jednotlivých populací podle indexu hloubky zářezu udává tab. 41. Graficky je variabilita populací v tomto znaku vyjádřena krabičkovým diagramem (obr. 24).

Tab. 41: Základní statistické údaje o znaku „index hloubky zářezu pysku“ pro studované populace.

lokality	taxon	n	X	± s.d.	medián	min.	max.
Abrod	transsilvanica	15	8.70	6.80	6.02	3.36	29.50
Jazevčí	transsilvanica	20	4.98	1.30	4.64	3.01	7.68
Kudlačena 1	transsilvanica	15	4.18	0.93	3.82	2.95	5.72
Kudlačena 2	transsilvanica	15	4.75	1.62	4.17	2.74	8.02
Pod Juráškou	transsilvanica	15	4.27	1.17	3.75	2.95	6.87
Podlízaná	transsilvanica	13	4.96	1.79	4.68	3.44	9.93
Podgrůň	fuchsii	25	5.68	2.57	5.10	2.52	14.18
Pod Juráškou	fuchsii	13	4.85	2.13	4.00	2.85	9.36
Poskla	fuchsii	20	5.08	2.65	4.02	2.86	12.91
Smutné údolí	fuchsii	15	5.18	4.33	3.74	2.67	20.37



Obr. 24: Krabičkový diagram znaku „index hloubky zarezu pysku“ pro studované populace. Z grafického znázornění byla odstraněna extrémně odlehlá hodnota v populaci z lokality Abrod (index = 29.50) a z lokality Smutné údolí (index = 20.37). Bylo tak učiněno za účelem zachování přehlednosti krabičkového diagramu.

Tab. 40: Mnohonásobné porovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pro znak „index hloubky zarezu pysku“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

	Abrod	Jazevčí	Kudlačena 1	Kudlačena 2	Pod Juráskou	Podlízaná
Abrod	-	ns	+	+	+	+
Jazevčí	ns	-	ns	ns	+	ns
Kudlačena 1	+	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	+	ns	ns	-	ns	ns
Pod Juráskou	+	+	ns	ns	-	ns
Podlízaná	+	ns	ns	ns	ns	-

Tab. 19: Mnohonásobné porovnání beskydských populací *D. fuchsii* (taxon = F) a *D. maculata* subsp. *transsilvanica* (taxon = T) pro znak „úhel druhého listu“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

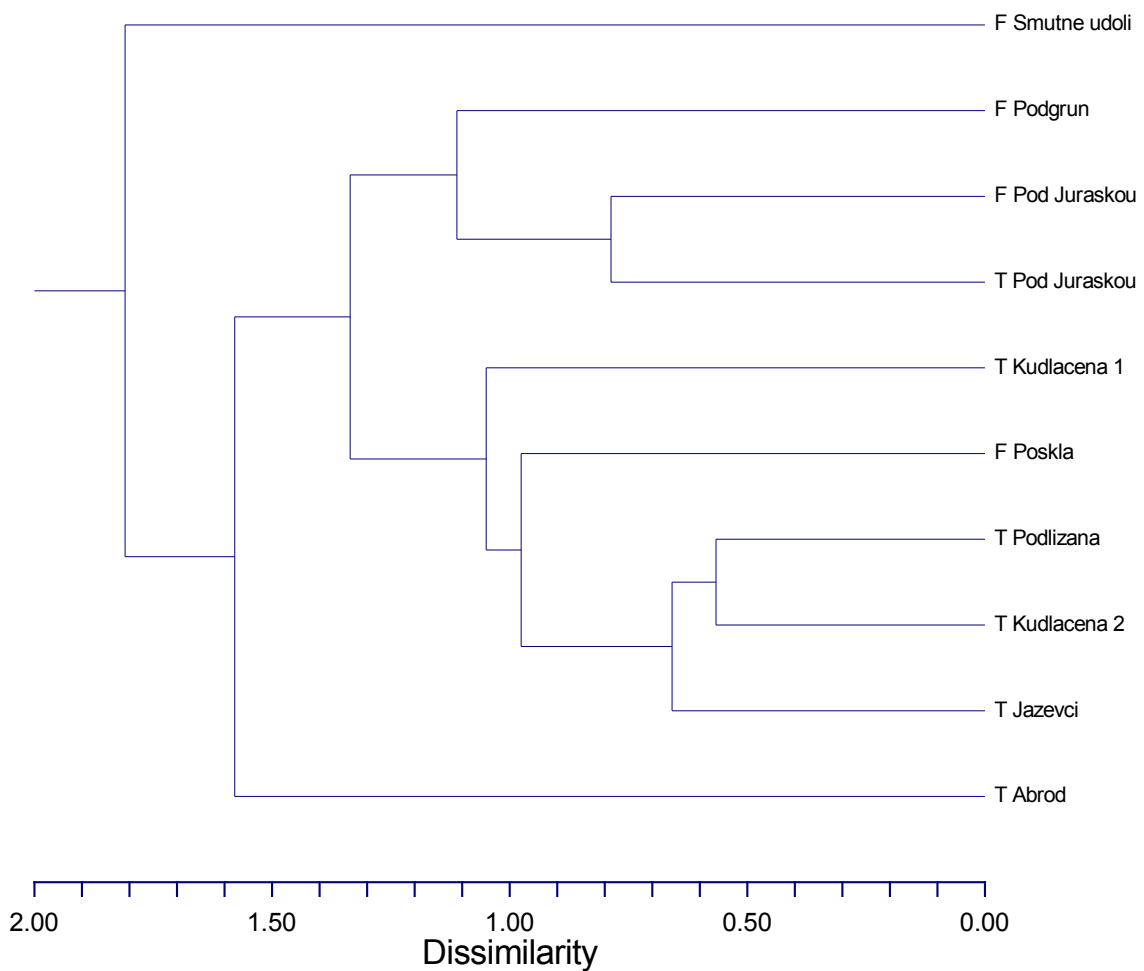
lokality	taxon	Pod Jurášskou	Podgrůň	Poskla	Smutné údolí	Kudlačena 1	Kudlačna 2	Pod Jurášskou	Podlízaná
		F	F	F	F	T	T	T	T
Pod Jurášskou	F	-	+	+	+	ns	ns	ns	ns
Podgrůň	F	+	-	+	+	+	+	+	+
Poskla	F	+	+	-	ns	ns	ns	ns	+
Smutné údolí	F	+	+	ns	-	ns	ns	ns	+
Kudlačena 1	T	ns	+	ns	ns	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	T	ns	+	ns	ns	ns	-	ns	ns
Pod Jurášskou	T	ns	+	ns	ns	ns	ns	-	ns
Podlízaná	T	ns	+	+	+	ns	ns	ns	-

Tab. 35: Mnohonásobné porovnání beskydských populací *D. fuchsii* (taxon = F) a *D. maculata* subsp. *transsilvanica* (taxon = T) pro znak „Heslop-Harisonův index“. Signifikantní výsledek ($P \leq 0.050$) je označen „+“, nesignifikantní výsledek = „ns“.

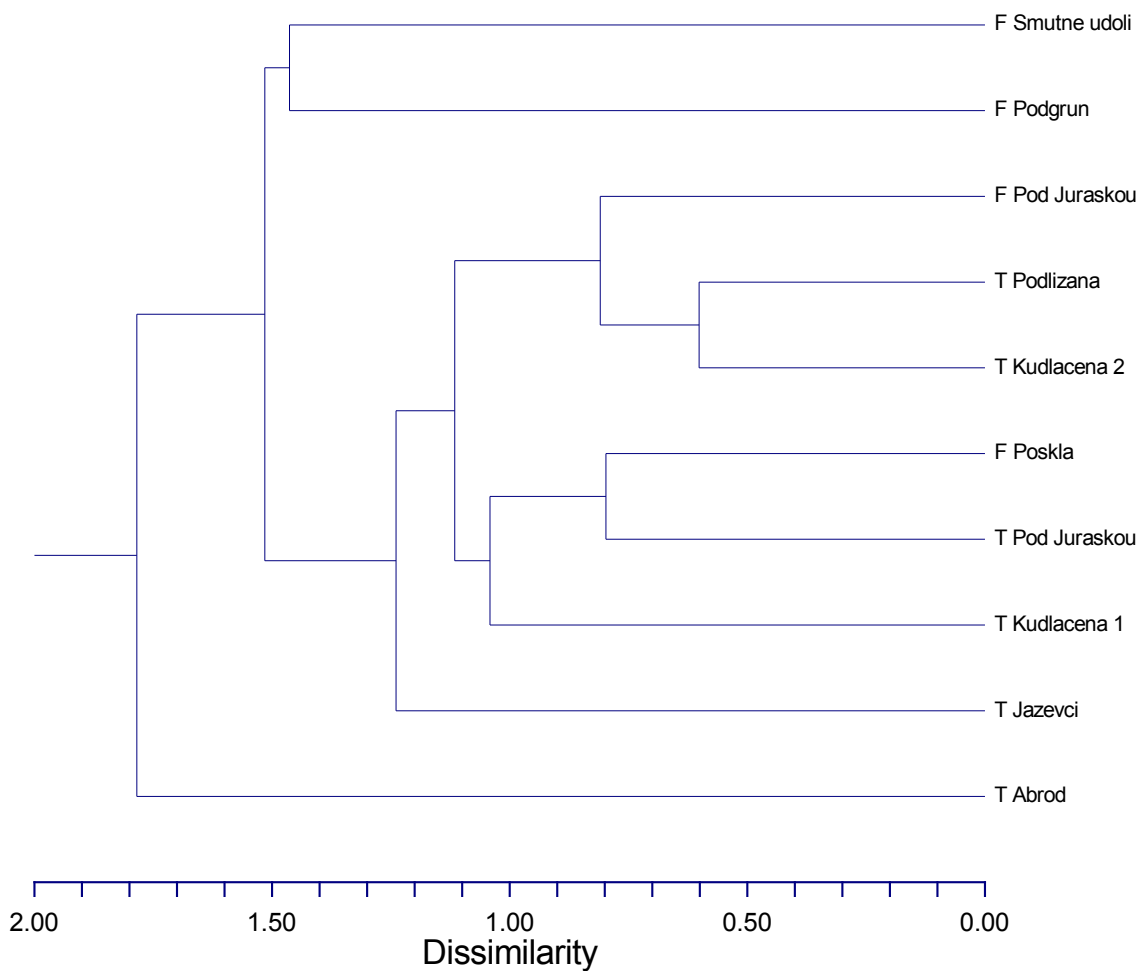
lokality	taxon	Pod Jurášskou	Podgrůň	Poskla	Smutné údolí	Kudlačena 1	Kudlačna 2	Pod Jurášskou	Podlízaná
		F	F	F	F	T	T	T	T
Pod Jurášskou	F	-	ns	ns	+	ns	ns	ns	ns
Podgrůň	F	ns	-	ns	+	ns	ns	ns	ns
Poskla	F	ns	ns	-	ns	ns	+	ns	ns
Smutné údolí	F	+	+	ns	-	+	+	+	+
Kudlačena 1	T	ns	ns	ns	+	-	ns	ns	ns
Kudlačena 2	T	ns	ns	+	+	ns	-	ns	ns
Pod Jurášskou	T	ns	ns	ns	+	ns	ns	-	ns
Podlízaná	T	ns	ns	ns	+	ns	ns	ns	-

3.3 Fenetická analýza

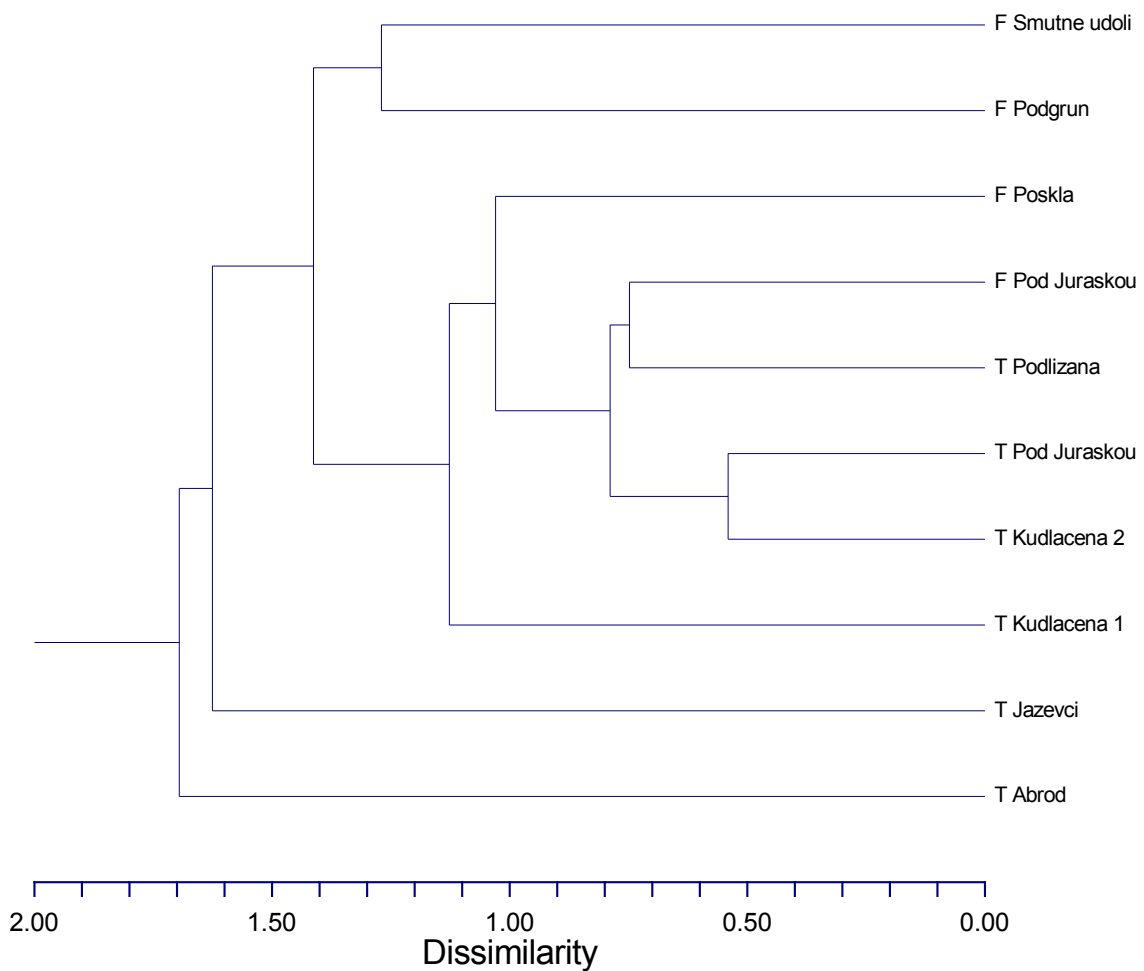
Míra morfologické podobnosti populací je vyjádřena pomocí tří dendrogramů. Dendrogram na obr. 25 byl sestaven pouze na základě primárních znaků (znaky č. 1-8 a 15-16). K sestavení dendrogramu na obr. 26 byly použity všechny poměry a indexy (znaky č. 9-14 a 17-20), které nevykazují závislost na celkové statnosti rostliny, a znaky „úhel listu vůči lodyze“ (znaky č. 5 a 8), které nebyly zahrnuty ve výpočtu žádného indexu. Třetí dendrogram (obr. 27) byl vytvořen na základě znaků na listech, v nichž byly pozorovány největší rozdíly mezi taxony i mezi populacemi. Použity byly ovšem jen znaky, které nevykazovaly závislost na celkové statnosti rostliny nebo které nebyly zahrnuty ve výpočtu žádného indexu (znaky č. 5 a 8-14).



Obr. 25: Dendrogram vyjadřující míru morfologické podobnosti studovaných populací vytvořený metodou shlukové analýzy UPGMA s Eukleidovskou vzdáleností jako mírou vzdálenosti mezi vzorky. Analyzovány byly všechny primární znaky. Před jménem lokality je uvedena zkratka předpokládaného taxonu (T = *D. maculata* subsp. *transilvanica*, F = *D. fuchsii*).



Obr. 26: Dendrogram vyjadřující míru morfologické podobnosti studovaných populací vytvořený metodou shlukové analýzy UPGMA s Eukleidovskou vzdáleností jako mírou vzdálenosti mezi vzorky. Analyzovány byly všechny indexy a znaky „úhel listu vůči lodyze“. Před jménem lokality je uvedena zkratka předpokládaného taxonu (T = *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, F = *D. fuchsii*).



Obr. 27: Dendrogram vyjadřující míru morfologické podobnosti studovaných populací vytvořený metodou shlukové analýzy UPGMA s Eukleidovskou vzdáleností jako mírou vzdálenosti mezi vzorky. Analyzovány byly znaky na listech, které nevykazovaly závislost na statnosti rostlin (indexy a úhly listu vůči lodyze). Před jménem lokality je uvedena zkratka předpokládaného taxonu (T = *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, F = *D. fuchsii*).

4. DISKUZE

4.1. Karyologické studium

Metodou průtokové cytometrie bylo zjištěno, že všechny analyzované rostliny všech taxonů zahrnutých do studie mají přibližně stejnou velikost jaderného genomu, která odpovídá tetraploidnímu počtu chromosomů, tedy $2n = 80$. Počet chromosomů byl ověřen metodou roztlakových preparátů nezralých prašníků. Kromě toho se také odhadovaná velikost genomu studovaných populací přibližně shoduje s velikostí genomu, kterou udávají Ståhlberg & Hedrén (2008) pro skandinávské rostliny *D. maculata* s. str. Absolutní obsah DNA skandinávských tetraploidních rostlin byl 12,96 ($\pm 0,241$ s.d.) pg. Průměrný obsah DNA všech studovaných jedinců byl 12,09 ($\pm 0,493$ s.d.) pg. Je však třeba dodat, že tato práce se nezaměřovala na zjištění přesné velikosti genomu a tato hodnota má pouze orientační charakter.

Žádná cytotypová variabilita nebyla nalezena uvnitř ani mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Všechny studované populace byly tetraploidní, $2n = 80$. Nepotvrdilo se tak, že by rostliny na lokalitě Pod Juráškou měly být diploidní a odlišovat se tím od bělokarpatské populace na lokalitě Jazevčí, jak uvádí Kubát (2010).

Stejný počet chromosomů byl zjištěn i u všech analyzovaných populací *D. fuchsii*. Ploidie bývá často považována za vůbec nejdůležitější znak k odlišení *D. maculata* s. str. a *D. fuchsii* a je na ní také de facto postavena klasifikace celého okruhu. Ta vychází z předpokladu, že rozdílný počet chromosomů je silnou reprodukčně-izolační bariérou mezi jinak fylogeneticky blízkými taxony (Vöth & Greilhuber 1980). Ačkoli mnohé studie ukázaly, že alespoň některé populace *D. fuchsii* ve střední Evropě jsou tetraploidní (např. Ståhlberg 2007), nebývá tento fakt ve většině literatury nijak reflektován. V české literatuře je to snad způsobeno i tím, že pro ČR zatím existují pravděpodobně jen dva údaje o zjištěných chromosomových počtech u *D. fuchsii* (Měsíček & Javůrková-Jarolímová 1992, Krahulcová 2003), i když v obou případech se jednalo o tetraploidy. Vzhledem k výsledkům této práce však lze konstatovat, že tetraploidní cytotyp *D. fuchsii* je zřejmě v Moravskoslezských Beskydech, tedy na studovaném území, hojně rozšířen. Toto zjištění je také v souladu s nedávno publikovanou prací (Ståhlberg & Hedrén 2010), která uvádí ve střední Evropě převahu tetraploidních populací *D. fuchsii*. Beskydské populace *D. fuchsii* mají stejný počet chromosomů jako *D. maculata* s. str. z lokality Abrod a především jako *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, s níž se vyskytují ve smíšených populacích. Reprodukčně-izolační

mechanismy mezi těmito dvěma taxony jsou tedy mnohem menší (jsou-li vůbec nějaké), než se předpokládalo. To také vysvětluje existenci rostlin s přechodnými znaky na celé škále mezi variabilitou obou taxonů, což se projevuje především ve zbarvení květů a skvrnitosti listů.

4.2. Morfometrické studium

Byly nalezeny statisticky významné rozdíly jak mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, tak také mezi srovnávanými taxony. Na znaky, u nichž byl výsledek signifikantní, je však třeba nahlížet opatrně. V některých případech, kdy byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi populacemi, nebylo přesto možné říci, že by se některá populace svou variabilitou vymykala. Signifikantní výsledek byl často způsoben značnou odlišností mezi populací s nejnižší a s nejvyšší průměrnou hodnotou daného znaku. Průměry ostatních populací pak ležely někde mezi těmito dvěma extrémy a nemohla u nich být prokázána odlišnost od žádné jiné populace. Příkladem takového znaku může být třeba výška rostliny nebo šířka pysku (F) při srovnávání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica*.

Dalším důvodem, proč přistupovat k výsledkům testů obezřetně, jsou odlehle hodnoty. U znaku výška / počet listů jsou v tabulce s popisnou statistikou (tab. 22) uvedeny průměry, podle nichž je tento index na lokalitě Jazevčí nižší než na Kudlačeně 2 a vůbec nejnižší je na lokalitě Abrod. Mnohonásobné porovnání ovšem říká, že se průměr populace na lokalitě Abrod liší od průměru populace na Jazevčí, ale nikoli od průměru populace z Kudlačeny 2. Tento zdánlivě nesmyslný výsledek je způsoben tím, že ze statistických testů byly vyloučeny odlehle hodnoty. Zde šlo o odlehlou hodnotu v populaci na lokalitě Kudlačena 2, která zkresluje průměr uvedený v tabulce natolik, že mění pořadí populací srovnaných podle průměru. Pokud by byla do testu zahrnuta i tato odlehlá hodnota, výsledek by byl pro tuto lokalitu signifikantní (tedy závěr by zněl, že byl nalezen signifikantní rozdíl mezi populacemi z lokality Abrod a Kudlačena 2).

Tento problém je způsoben relativně malým statistickým vzorkem v každé populaci. S ním souvisí velký vliv každého jedince na výsledný průměr populace, velké množství odlehlých hodnot a častý problém s normalitou dat. Bohužel vzhledem k početnostem jedinců na všech lokalitách není možné tento vzorek příliš zvětšovat. Z deseti zkoumaných populací obou taxonů pouze na lokalitě Podgrůň roste více než sto rostlin, většinou je to však mnohem méně.

K určitému zkreslení výsledků mohlo dojít také v důsledku nenáhodnosti výběru ve smíšených populacích. Podle metodiky měření prstnaticů, kterou publikovali Bateman &

Denholm (1989), musí být ve smíšených populacích vybírány takové rostliny, které svými znaky co nejlépe odpovídají taxonu, který mají reprezentovat. V případě analyzovaných populací se jednalo o pět z celkových šesti populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Na lokalitě Abrod roste analyzovaná populace společně s populací označovanou jako *D. maculata* subsp. *maculata*. Na lokalitách v Moravskoslezských Beskydech jsou všechny čtyři populace smíšené s *D. fuchsii*. Jedinou nesmíšenou populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byla populace na lokalitě Jazevčí. Mezi populace *D. fuchsii* byla také zařazena jedna populace ze smíšené lokality. Jednalo se o lokalitu Pod Juráškou. Na této lokalitě tak byly analyzovány populace obou taxonů.

Pokud je výběr prováděn tímto způsobem, ztrácí se krajní variabilita populace ve směru k druhému taxonu (např. pokud na smíšených lokalitách existovaly fialově kvetoucí rostliny *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, nebyly vybrány, protože výběr byl prováděn především na základě barvy květů, a nebylo tedy zřejmé, o který taxon se jedná). Zmenšuje se tím pravděpodobnost prokázání rozdílu mezi čistými a smíšenými populacemi stejného taxonu. Rozdíly mezi těmito populacemi jsou ve skutečnosti pravděpodobně větší, než může být zjištěno. Naopak zvyšuje se riziko, že bude zjištěn signifikantní rozdíl mezi taxony, aniž by tento rozdíl existoval. Rozdíl mezi taxony je pravděpodobně menší, než může být zjištěno.

Naměřené hodnoty některých znaků je třeba srovnat s výsledky uváděnými v literatuře. Většina prací se však zabývá srovnáváním *D. fuchsii* a *D. maculata* subsp. *maculata*. Pro *D. maculata* subsp. *transsilvanica* existuje jen málo literárních údajů. Některé znaky by sice měly být shodné s nominální subspecíí (např. znaky na květech), ale v mnoha znacích by se měly odlišovat i oba poddruhy (např. index délka / šířka listu) a výsledky získané pro *D. maculata* subsp. *maculata* jsou s výsledky této práce neporovnatelné. Při srovnávání získaných hodnot s literárními údaji jsou vždy brány v úvahu především střední hodnoty (průměry). Charakterizování populací pomocí rozmezí hodnot, jichž může znak nabývat, je většinou vzhledem k obrovské variabilitě nevhodné.

4.2.2 Srovnání populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica*

Mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* byly zjištěny signifikantní rozdíly u většiny testovaných znaků. Signifikantní rozdíl nebyl prokázán pouze u znaku „úhel druhého listu“ a dále u tří indexů: výška rostliny / délka druhého listu, délka druhého listu / vzdálenost nejširšího místa listu od jeho báze, index délky středního úkroju a Heslop-Harisonův index („shape index“).

Průměrná výška populací se pohybovala mezi 42 až 52 cm. Nejvyšší průměrnou výšku měla populace Pod Juráškou, následována populací Kudlačena 1. Naopak v průměru nejnižší rostliny rostou na Abrodu a na lokalitě Podlízaná. Přestože byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi některými z těchto populací, žádná z nich se svou variabilitou nijak zvlášť nevyvíkala. Rostliny jsou navíc ve výšce velmi variabilní i v rámci populace. Tento znak tedy patrně nemá žádnou taxonomickou hodnotu. Je ovšem dobré chápat jej jako ukazatel celkové statnosti rostlin v konkrétní populaci při srovnávání dalších znaků v absolutních hodnotách.

Celkovou statnost rostliny je potřeba brát v úvahu například při srovnávání počtu listů. Těch bylo na každé rostlině napočítáno v rozmezí 4 až 12, ovšem medián byl nejčastěji 6. Vyšší střední hodnoty byly zaznamenány u populace na lokalitě Pod Juráškou a vůbec nejvyšší počty listů měly rostliny na lokalitě Abrod (medián = 8). Rostliny z Abrodu se také signifikantně odlišovaly od všech populací kromě právě zmíněné populace Pod Juráškou. Průměrný počet listů v populaci Pod Juráškou nebyl však o mnoho větší než nejbližší nižší zjištěný průměr a jeho relativně vysoká hodnota může být vysvětlena celkovou statností rostlin. Zato rostliny z lokality Abrod patřily svou výškou k nejmenším (podle mediánu dokonce byly nejmenší). Byl proto vypočítán index výška / počet listů. Tímto indexem bylo potvrzeno, že rostliny z lokality Abrod mají relativně více listů ve srovnání s většinou ostatních populací. Zajímavá zde ovšem byla pozice populace z lokality Podlízaná, jejíž index stál svou hodnotou přibližně mezi populací z Abrodu a ostatními populacemi. Způsobeno to bylo tím, že se jednalo o rostliny svou výškou srovnatelné s populací na Abrodu, avšak s počtem listů shodným s ostatními populacemi (medián = 6). Naopak u rostlin z populací Pod Juráškou a Kudlačena 1 dosahoval index poměrně vysokých hodnot, což bylo zapříčiněno tím, že tyto v průměru statné rostliny měly opět podobný počet listů (medián = 6, resp. 7). Zdá se tedy, že počet listů je vcelku konstantní a relativně nezávislý na výšce rostliny a na lokalitě Abrod je tento počet v průměru o něco vyšší než u ostatních populací. Je také vhodné zmínit fakt, že typová rostlina *D. maculata* subsp. *transsilvanica* má rovněž 6 listů a další dvě rostliny, které jsou spolu s ní na jedné položce, mají 5 a (asi) 7 listů (podle fotografie typové položky, již publikovali autoři Klein & Deutsch 2005).

Další znak, v němž se populace na lokalitě Abrod odlišovala od ostatních populací (kromě populace na lokalitě Podlízaná, viz dále), byla průměrná délka prvního listu, která byla jen 6,9 cm, zatímco u ostatních populací se pohybovala v rozmezí 9,6 – 12,3 cm. Signifikantní odlišnost od většiny populací byla zjištěna také v indexu výška / délka prvního listu. Naopak v širce se populace na Abrodu od většiny ostatních populací neodlišovala. To se

logicky promítlo i do indexu délka / šířka, který byl pro tuto populaci v průměru podstatně nižší. Lze tedy říci, že rostliny v populaci na Abrodu mají první list relativně kratší.

Průměrná délka prvního listu v populaci na lokalitě Podlízaná stojí opět mezi průměrem lokality Abrod a dalšími populacemi. Hodnota mediánu se však blíží podstatně více ostatním populacím, zvláště když přihlídneme k tomu, že u průměrně nižších rostlin se dají také očekávat v průměru kratší listy. V indexu délky ku šířce se navíc tato populace již od jiných populací neodlišuje (kromě populace na Jazevčí, o čemž bude pojednáno dále) a v poměru výška / délka prvního listu se dokonce signifikantně odlišuje od populace na Abrodu.

Nejdelší první list měly v průměru rostliny na lokalitě Jazevčí (12,3 cm). Je zajímavé, že populace byla v tomto znaku velmi málo variabilní. Délkou ani šířkou prvního listu se populace od většiny jiných signifikantně neodlišovala. Ovšem index délka / šířka byl signifikantně odlišný od všech ostatních populací, nabýval průměrné hodnoty 7,16 (nejbližší nižší průměrný index byl 5,74).

Výrazně širší první list měly rostliny z populace Pod Juráškou, následovány populací Kudlačena 1. Po vypočtení indexu délka / šířka se však ukázalo, že se pravděpodobně opět jedná jen o odlišnost způsobenou celkovou statností rostlin.

Wucherpfennig (2004) uvádí, že index délka / šířka prvního listu by u *D. maculata* subsp. *transsilvanica* měl být ≥ 5 (zatímco u *D. fuchsii* se pohybuje okolo 4). Toto kritérium výrazně nesplňuje populace z lokality Abrod (index = 3,91) a těsně ani populace z lokality Pod Juráškou (index = 4,96).

Znaky a indexy na druhém listu již byly podstatně více uniformní. Průměrná délka se pohybovala mezi 11,2 – 15,0 cm, průměrná šířka mezi 1,6 – 2,3 cm. Přestože existovaly statisticky významné rozdíly mezi populacemi v délce i šířce druhého listu, žádná populace se v těchto znacích výrazně neodlišovala od ostatních. Poměr výšky ku délce druhého listu dokonce vůbec neposkytoval signifikantní výsledek. Pouze v poměru délka / šířka se dal vysledovat podobný trend jako u prvního listu. Nejvyšší byl průměrný index pro populaci z lokality Jazevčí (9,17), nejnižší pro populaci na lokalitě Abrod (6,13). Zajímavý zde byl výsledek pro populaci Pod Juráškou, u níž index nabýval takřka stejné průměrné hodnoty jako u populace na Abrodu (6,60). U ostatních populací se pohyboval mezi 7,20 – 7,52.

Na druhém listu byl měřen také poměr délka / vzdálenost nejširšího místa od báze listu. Ve většině literatury je udáváno, že *D. maculata* s. str. (incl. subsp. *transsilvanica*) má list nejširší přibližně v polovině délky (např. Procházka & Velíšek 1983, Průša 2005a). To ovšem neplatí pro žádnou ze studovaných populací. Střední hodnoty indexů délka listu / M vždy jasně ukazovaly, že nejširší místo je nad polovinou listu.

Ve znaku úhel listu vůči lodyze byly populace opět velmi uniformní. V úhlu druhého listu nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi žádnými dvěma populacemi. Velikost úhlu se pohybovala mezi 20–27°. V úhlu prvního listu byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populací s nejmenším průměrným úhlem na lokalitě Jazevčí (28,5°) a největším průměrným úhlem na lokalitě Abrod (41°). U ostatních populací se průměr pohyboval mezi 32-37° (u všech populací stejný medián = 30°).

Přestože na květech bylo měřeno celkem 6 znaků, většina z nich má smysl jen v poměrech a indexech. Jediné dva znaky, které bylo smysluplné testovat jako absolutní hodnoty, byly délka a šířka pysku. V literatuře se různí údaje o těchto hodnotách. Např. Kubát (2010) uvádí, že délka pysku *D. maculata* subsp. *transsilvanica* je 10-12 mm, šířka 14-16 mm. Gathoye & Tyteca (1987) pro rostliny ze západní Evropy zjistili průměrné hodnoty délky 8,4 mm a šířky 11,0 mm (tyto údaje se však týkají *D. maculata* subsp. *maculata*). U analyzovaných populací se průměrné hodnoty délky pysku pohybovaly v rozmezí 7,3-8,6 mm, pro šířku pysku to bylo 11,0-12,5 mm.

Nejkratší a nejužší (tedy celkově nejdrobnější) pysk měly rostliny na lokalitě Abrod. V délce pysku byl rozdíl od většiny ostatních populací signifikantní. Mohla by to být další z morfologických odlišností této populace, ale spíše zde bude souvislost s celkově malým vzrůstem rostlin na této lokalitě. Pozoruhodný je ovšem výsledek měření pro lokalitu Kudlačena 1. Ačkoliv se tato populace v těchto dvou znacích až na jednu výjimku signifikantně neodlišovala od žádné jiné, je zajímavé, že u ní byly zjištěny druhé nejnižší (po lokalitě Abrod) hodnoty délky a šířky pysku. Přitom tato populace se většinou znaků řadí k těm nejstatnějším a největším. Jediným vysvětlením zde může být geneticky fixovaná variabilita. Znamenalo by to, že velikost květů nemusí záviset na celkové statnosti rostlin. Otázkou však zůstává, jestli zde nedošlo ke zkreslení v důsledku malého výběru.

Nejvýznamnějším indexem měřeným na květech je Heslop-Harisonův index. Ten bývá považován za rozlišovací kritérium mezi taxony uvnitř okruhu *D. maculata* (např. Heslop-Harison 1951, Borsos 1961, Buttler 2000). Vyjadřuje délku prostředního laloku vůči lalokům postranním. U zkoumaných populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* nabývá tento index průměrných hodnot 1,20 - 1,28, což znamená, že prostřední úkrojek mírně přesahuje úkrojky boční. Podle většiny autorů již tato hodnota odpovídá spíše *D. fuchsii* (např. Borsos 1961, Buttler 2000). V tomto znaku však byla pozorována velká variabilita, v každé populaci byly nalezeny rostliny s pyskem typově odpovídajícím *D. maculata* s. str. i *D. fuchsii*.

Dalším indexem, pro nějž byl výsledek srovnání signifikantní, byl index šířky středního úkrojku. Ten vyjadřuje relativní šířku prostředního úkrojku vztaženou k šířce celého pysku,

tedy čím je index vyšší, tím je úkrojek užší. *D. maculata* s. str. má být charakterizována výrazně užším prostředním úkrojkem, než jaká je šířka úkrojků postranních (např. Kubát 2010). Mezi srovnávanými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* se značně odlišovala populace na lokalitě Abrod. Průměrný index v této populaci byl nižší než u ostatních populací, květy této populace tedy mají širší prostřední úkrojek, čímž se blíží variabilitě *D. fuchsii*. Je ovšem potřeba zmínit, že dokonce i ve srovnání s populacemi *D. fuchsii* je tento index u rostlin na lokalitě Abrod nízký.

Signifikantní rozdíly byly nalezeny i v indexu hloubky zářezu. Čím je tento index větší, tím menší je hloubka zářezu mezi postranními a prostředním úkrojkem pysku. Hloubka zářezu je přitom dalším uváděným rozlišovacím znakem mezi *D. fuchsii* a *D. maculata* s. str., pro kterou je charakteristický mělký zářez. Populace na lokalitě Abrod se významně odlišovala od všech populací, kromě populace na lokalitě Jazevčí. Její průměrný index byl podstatně větší. Znamená to tedy, že v tomto znaku květy populace na lokalitě Abrod odpovídají spíše *D. maculata* s. str.

Morfologická studie tedy ukázala, že mezi studovanými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* zaujímá odlišné postavení populace na lokalitě Abrod. To potvrdila i fenetická studie, neboť populace na Abrodu nikdy netvořila shluk s žádnou jinou populací (dokonce ani s populacemi *D. fuchsii*), a stojí tak zcela samostatně. Jedná se o rostliny celkově drobnější, nižší, s větším počtem listů. Listy jsou relativně krátké, široké a vyrůstají pod větším úhlem. Květy jsou drobné, se širokým prostředním úkrojkem, avšak mělkým zářezem. Otázkou zůstává, jak se tato populace liší od rostlin považovaných za *D. maculata* s. str. na společné lokalitě. Ačkoli pro to nebyly shromážděny podklady, na základě pozorování lze předpovědět, že jediným rozdílem zde bude barva květů a skvrnitost listů.

Poněkud odlišné se jeví i rostliny na lokalitě Jazevčí. Nejvýraznějším znakem populace na lokalitě Jazevčí jsou poměrně dlouhé a úzké listy vyrůstající pod malým úhlem vůči lodyze. V některých znacích, u nichž nebyla prokázána významná odlišnost od jiných populací, se tato populace pohybuje v krajních hodnotách variability a lze tak alespoň vysledovat určité trendy (např. nejširší místo listu je blíže k bázi, zářez mezi laloky pysku je menší).

Fenetická analýza založená na primárních znacích odlišnost této populace nepotvrdila. Tyto znaky však vykazují silnou závislost na celkové statnosti rostlin, daleko větší váhu proto má dendrogram sestavený na základě poměrů a znaků, které tuto vazbu nevykazují. V tomto dendrogramu již populace zaujímá vcelku samostatné postavení. V dendrogramu sestaveném pouze podle znaků na listech, které zároveň nevykazují závislost na celkové statnosti,

dokonce stojí tato populace zcela samostatně. Výsledky fenetické analýzy jsou také pravděpodobně zkresleny v důsledku nenáhodného výběru ve smíšených populacích, kde byly k analýzám vybírány přednostně rostliny svým vzhledem připomínající *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Odhadovaný průměr smíšené populace je tak vůči tomu skutečnému posunutý směrem k variabilitě předpokládaného taxonu, zatímco odhadovaný průměr čisté populace by měl být nezkrácený. Rozdíl mezi čistými a smíšenou populací je pravděpodobně větší, než lze prokázat.

Populace na Jazevčí se navíc od ostatních odlišuje také ekologicky, jako jediná totiž obývá mezofilní stanoviště (ostatní populace rostou vždy na mokřadech) a jako jediná také neroste ve smíšené populaci. Právě proto je ovšem obtížné hodnotit kauzalitu těchto vlastností, tj. zda se jedná o geneticky fixovanou morfologickou odlišnost, díky níž populace osídlila odlišné stanoviště, anebo jde jen o fenotypovou plasticitu v důsledku odlišných podmínek. Tuto otázku by mohla zodpovědět molekulární analýza.

Další čtyři populace byly ve studovaných znacích poměrně konzistentní. Ve všech dendrogramech tvořily (společně s některými populacemi *D. fuchsii*) jeden shluk. Některé populace se mezi sebou odlišovaly velikostí a absolutními hodnotami měřených znaků, avšak poměry byly většinou stejné. Výjimečně se některá populace vymykala i průměrnými indexy. Rostliny na lokalitě Pod Juráškou se od ostatních populací odlišují relativně širšími listy. Populace z lokality Kudlačena 1 má zase v porovnání s celkovou statností drobnější květy. Vysvětlením této variability může být malá velikost populací. Ta bývá příčinou evolučních procesů, které vedou ke snížení variability uvnitř populace a naopak k větší variabilitě mezi populacemi (jako např. genetický drift). Svou roli v tom může hrát i v podstatě ostrovní charakter výskytu.

V souhrnu by popis taxonu vyskytujícího se na území Moravskoslezských Beskyd mohl znít takto: Rostliny vysoké v průměru 42-52 cm, obvykle s 5-7 lodyžními listy vyrůstajícími z lodyhy pod úhlem okolo 30°. První list v průměru asi 12 cm dlouhý, maximálně 3(-3,5) cm široký. Druhý list při stejné šířce o něco delší, s nejširším místem nad polovinou délky. Pysk okolo 8 mm dlouhý a 12(-15) mm široký, s prostředním úkrojkem nejčastěji zdéli nebo mírně přesahujícím laloky postranní.

Ze získaných výsledků je třeba vyvodit také závěry pro metodiku měření. Ukázalo se, že nejvýznamnější znaky poskytující informaci o variabilitě populací jsou na prvním listu. Druhý list byl podstatně více uniformní. Důležité jsou rovněž znaky měřené na květech, v nichž se od ostatních populací výrazně odlišuje populace na lokalitě Abrod. Ve všech případech mají poměry jednotlivých znaků větší váhu než samotné znaky primární.

V kapitole týkající se variability *D. maculata* subsp. *transsilvanica* je na místě zmínit také pár postřehů, které nebyly (a ani nemohly být) statisticky podchyceny. Na lokalitě Jazevčí, kde se vyskytovala jediná nesmíšená populace, byly pozorovány čtyři rostliny (z celkového počtu asi 70 prohlédnutých), které nejenže měly květy narůžovělé, ale na jejich pysku byla pozorována i slabá kresba. V populaci byly také zaznamenány čtyři rostliny (ve třech případech se jednalo o rostliny s kresbou na pysku), které měly slabě skvrnité listy. Skvrny byly okrouhlé i protáhlé (podobně jako u *D. fuchsii*). Fotodokumentace těchto rostlin je uvedena v příloze 1.

Na lokalitě Pod Juráškou byla pozorována rostlina, jejíž jeden jediný květ měl poněkud nažloutlou barvu pysku (fotodokumentace viz příloha 2). Jednalo se o čerstvě otevřený zdravý květ, nemohlo se tedy jednat o začínající usychání či hnilobu. Květ byl propláchnut ve vodě, aby se zjistilo, zda se nejedná o znečištění, avšak skvrna se nesmyla. Rostlina je v tomto ohledu unikát, u žádné jiné rostliny v žádné populaci nebyl tento jev pozorován. Jinými znaky se rostlina nijak neodlišovala od zbytku populace.

4.2.3 Srovnání taxonů *D. fuchsii* a *D. maculata* subsp. *transsilvanica*

Do srovnání taxonů byly zahrnuty pouze geograficky blízké populace z lokalit v Moravskoslezských Beskydech. U naprosté většiny znaků byl prokázán větší vliv populace, než jaký byl vliv taxonu na celkovou variabilitu. Signifikantní odlišnost mezi taxony byla zjištěna pouze u dvou znaků: úhel prvního listu a index délka / šířka prvního listu. Další čtyři znaky nemohly být podrobeny hierarchické ANOVě. Neparametrickým testem bylo proto zjišťováno, zda se v těchto znacích odlišují populace bez ohledu na taxon. Výsledek byl signifikantní pouze u dvou znaků: úhel druhého listu a Heslop-Harrisonův index.

Průměrný úhel prvního i druhého listu byl v populacích *D. fuchsii* téměř vždy větší než u populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Jedinou výjimkou byl průměrný úhel druhého listu u populace *D. fuchsii* na lokalitě Pod Juráškou, který byl dokonce menší než u populace *D. maculata* subsp. *transsilvanica* ze stejné lokality. Průměrný úhel prvního listu byl u obou taxonů poněkud větší, než tomu bylo u druhého listu. Hraniční střední hodnota (jak průměr, tak medián) mezi taxony byla pro oba listy 30°. U prvního listu byl rozdíl mezi taxony signifikantní. Pro úhel druhého listu bylo provedeno mnohonásobné porovnání a bylo zjištěno, že populace z lokality Podgrůň se odlišuje od všech populací obou taxonů. Dále se od sebe navzájem odlišovaly téměř všechny populace *D. fuchsii*, což svědčí o velké variabilitě v rámci tohoto taxonu.

Průměrný index délka / šířka prvního listu se u *D. maculata* subsp. *transsilvanica* pohyboval v rozmezí hodnot 4,96-5,74. U *D. fuchsii* nabýval hodnot 3,55-4,78. Wucherpfennig (2004) uvádí jako jeden z nejdůležitějších rozdílů mezi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a *D. fuchsii* právě hodnotu tohoto indexu. U prvního jmenovaného taxonu má být index ≥ 5 , u druhého se má přibližně rovnat 4. V tomto ohledu se tedy výsledky víceméně shodují.

Heslop-Harisonův index má být jedním z nejdůležitějších rozlišovacích znaků mezi taxony *D. fuchsii* a *D. maculata* s. str. (Heslop-Harison 1951, Borsos 1961, Jagiełło 1987, Buttler 2000, Ståhlberg & Hedrén 2008). Mezi většinou analyzovaných populací nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v hodnotě tohoto indexu. Velmi vysoký průměrný index byl však zjištěn u populace *D. fuchsii* ve Smutném údolí. Poněkud vyšší byla průměrná hodnota indexu také u populace *D. fuchsii* z lokality Poskla. Naopak u zbývajících dvou populací *D. fuchsii* byla průměrná hodnota indexu stejná nebo nižší než některé z průměrných hodnot tohoto indexu u *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. U populace ve Smutném údolí byl průměrný index = 1,39. U populace na lokalitě Poskla byl zjištěn průměrný index = 1,30. Průměry ostatních populací se pohybovaly mezi 1,20-1,28. Za hraniční hodnotu se většinou považuje 1,2. Nižší hodnoty jsou charakteristické pro *D. maculata* s. str., vyšší pro *D. fuchsii* (Borsos 1961, Buttler 2000). Takový předpoklad zcela splňují západoevropské populace, pro něž byly zjištěny indexy 1,16 (*D. maculata* s. str.) a 1,41 (*D. fuchsii*) (Gathoye & Tyteca 1987). Ståhlberg & Hedrén (2008) sice konstatují, že tento index je dobrým rozlišovacím znakem, nestanovují ale žádnou hraniční hodnotu. Z výsledků, které uvádějí, je zřejmé, že hodnoty indexů jsou u skandinávských taxonů mírně posunuty směrem nahoru. U rostlin z populací považovaných za *D. maculata* s. str. se index nejčastěji pohybuje okolo 1,22-1,26, u jedné populace dokonce dosahuje hodnoty 1,42. V populacích *D. fuchsii* pak tento index nabývá průměrných hodnot v rozmezí 1,36-1,56, s nejnižší zjištěnou hodnotou 1,27. Pokud by byly srovnávány populace z Moravskoslezských Beskyd se skandinávskými populacemi, pak by všechny populace *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a některé populace *D. fuchsii* byly zařazeny do taxonu *D. maculata* s. str. Naopak pokud by pro srovnání byly použity populace západoevropské, pak by všechny analyzované populace musely být hodnoceny jako *D. fuchsii*. Je tedy zřejmé, že význam Heslop-Harisonova indexu pro vnitřní taxonomii okruhu musí být ještě přehodnocen. Zřejmě neexistuje žádná univerzální hraniční hodnota mezi taxony, která by se dala použít v celém areálu výskytu. Ostatně Averyanov (1982) konstatuje, že v Rusku není ve tvaru pysku mezi taxony vůbec žádný rozdíl.

Morfometrická studie ukázala, že mezi některými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* jsou větší rozdíly než mezi populacemi tohoto taxonu a populacemi *D. fuchsii*. Naopak některé populace označované jako *D. fuchsii* mají morfologicky blíže k populacím *D. maculata* subsp. *transsilvanica* než k jiným populacím *D. fuchsii*. Toto dobře potvrdila i fenetická analýza. Většina morfologických znaků uváděných v literatuře jako významné odlišovací znaky mezi těmito taxony neposkytovala signifikantní výsledek. Pokud jde o rozdíly zjištěné ve znaku úhel listu nebo v indexu délka / šířka listu, je třeba přistupovat k závěrům velmi opatrně. Jedná se totiž právě o ty znaky, které výrazně utváří celkový habitus rostliny a na jejichž základě byl prováděn nenáhodný výběr ve smíšených populacích. Rozdíl mezi taxony v těchto znacích proto může být ve skutečnosti menší.

Směrodatné také může být sledování rozdílů mezi populacemi obou taxonů na společné lokalitě Pod Juráškou. Tyto dva soubory dat mají v mnoha znacích téměř shodné střední hodnoty (což potvrzuje i jejich shlukování v dendrogramu vytvořeném podle primárních znaků). Pokud se odlišují, pak je to zase jen ve znacích, na jejichž základě musel být prováděn nenáhodný výběr. Ve skutečnosti se pravděpodobně jedná o homogenní populaci bez jakýchkoli reprodukčně-izolačních bariér (mají stejný počet chromosomů), která je extrémně variabilní ve zbarvení květů a skvrnitosti listů a z jejíž morfologické variability byly zachyceny jen krajní hodnoty. Statisticky by bylo možné toto tvrzení prokázat pouze tak, že by byly sebrány údaje pro daleko větší počet jedinců obou populací, s těmito údaji by se pracovalo jako s jedním souborem dat a bylo by sledováno, zda je rozložení dat normální, nebo zda například vykazuje bimodalitu. Vzhledem k početnosti populace by však zřejmě nebyl dostatečně velkým vzorkem ani census. Jedinou zbývající metodou, která by mohla přinést jasnou odpověď, je tedy molekulární studie.

Jako velmi pravděpodobná se jeví možnost, že každá smíšená populace považovaná za dva taxony je ve skutečnosti populací jediného taxonu, s neomezeným tokem genů, avšak částečně izolovanou a morfologicky odlišnou od jiných populací hodnocených jako *D. fuchsii*. Za jednu z vlastností některých populací tohoto taxonu je pak možné považovat také schopnost generovat vysoké procento jedinců s bílými květy a neskvřitými listy. Takoví jedinci bývají pozorováni ve většině populací *D. fuchsii*, byť v daleko menší míře. Zároveň je zde evidentní vazba mezi bílým zbarvením květů a neskvřitými listy, která se během tohoto studia velmi dobře potvrdila. To by vysvětlovalo nejenom poměrně velké rozdíly v některých znacích mezi analyzovanými populacemi *D. fuchsii*, ale také otázku, proč v Beskydech mohou existovat čisté populace *D. fuchsii* i na takových lokalitách, kde by byly podmínky

příhodné pro existenci smíšené populace. Přesnější odpověď by však mohla poskytnout opět jenom molekulární studie.

Hodnoty Heslop-Harrisonova indexu zjištěné pro *D. fuchsii* poukazují ještě na jednu nesrovnalost. Zatímco analyzované populace považované za *D. maculata* subsp. *transsilvanica* jsou ve většině znaků poměrně homogenní, u populací *D. fuchsii* tomu tak být nemusí. Z výsledků fenologické analýzy vyplývá zajímavá skutečnost. V dendrogramech (založených na indexech a znacích nezávislých na celkové statnosti rostlin) stály vždy samostatně populace *D. fuchsii* z lokalit Podgrůň a Smutné údolí, zatímco ostatní dvě populace tohoto taxonu se shlukovaly s beskydskými *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Lokality Podgrůň a Smutné údolí jsou přitom geograficky poměrně vzdálené jak od sebe navzájem, tak od oblasti, kde se na velmi malém území nachází ostatní populace *D. fuchsii* spolu s beskydskými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Poměrně samostatně pak stála také bělokarpatská populace na Jazevčí a ještě více morfologicky odlišná byla populace na slovenské lokalitě Abrod. Zdá se tedy, že míra morfologické odlišnosti koreluje více s geografickou vzdáleností jednotlivých populací, než s jejich předpokládanou příslušností k určitému taxonu. Nejlépe geografická vzdálenost populací korelovala se znaky na listech (s vyloučením vlivu celkové statnosti rostlin), jak ukazuje dendrogram na obr. 27.

4.3 Důsledky pro taxonomické pojetí studovaných populací

Mezi populacemi považovanými za *D. fuchsii* subsp. *fuchsii* byly v oblasti Moravskoslezských Beskyd zjištěny větší morfologické rozdíly než mezi populacemi považovanými za odlišné taxony (dokonce odlišné druhy), tedy *D. fuchsii* a *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. To potvrdila i fenetická analýza. Nejvýznamnějším rozdílem mezi populacemi považovanými za různé druhy bylo zbarvení květů a skvrnitost listů. Existence rostlin s přechodnými znaky však znemožňuje jednoznačné zařazení všech jedinců. Kromě toho mezi těmito dvěma taxony pravděpodobně neexistují žádné reprodukčně-izolační mechanismy (doba květu, ekologie i ploidie jsou shodné). Je tedy zřejmé, že tyto populace lze sotva považovat za dva samostatné druhy. Pro rostliny s bílými květy a neskvřitými listy by snad bylo možné užití taxonomické kategorie „varieta“, podobně jako v případě *D. fuchsii* var. *psychrophila* (Schlechter) Soó, která se však od nominální variety odlišuje nejen morfologickými znaky, ale také ekologicky (Průša 2005a, 2005b, Kubát 2010). Kromě toho dokáže *D. fuchsii* var. *psychrophila* tvořit i čisté populace bez nominální variety, zatímco „bělokvětá“ odchylka beskydských taxonů *D. maculata* agg. se zřejmě vyskytuje vždy pouze

společně s „fialovokvětou“. Nejvhodnější by proto bylo užití taxonomické kategorie „forma“, jak je tomu např. u barevných odchylek *D. sambucina*. Ačkoliv v populacích *D. sambucina* na našem území jsou vždy zastoupeny obě barevné formy, v některých oblastech areálu může převážit jen jedna (Kubát 2010). Kromě toho dochází k častému křížení obou forem (Průša 2005a, Kubát 2010). V těchto ohledech je situace u beskydských populací *D. maculata* agg. velmi podobná.

Vzhledem ke značným morfologickým odlišnostem však patrně nelze k výše zmiňovaným taxonům přiřadit populaci na Abrodu. Tato populace, udávaná jako *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, tvoří smíšenou populaci s rostlinami obvykle považovanými za *D. maculata* subsp. *maculata*. Je ovšem velmi pravděpodobné, že mezi těmito morfotypy opět neexistuje žádný jiný rozdíl než barva květů a skvrnitost listů a že se jedná opět pouze o barevnou odchylku. Hodnotami některých znaků srovnaných s literaturou navíc tato populace připomíná spíše *D. fuchsii*, a to dokonce více než některé beskydské populace, které jsou za *D. fuchsii* považované.

Populace na lokalitě Jazevčí naopak nejvíce připomínala v literatuře (např. Kubát 2010) popisovanou *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Ovšem ani zde nebyla shoda úplná. Je pravděpodobné, že populace na Jazevčí má poměrně blízko k beskydským populacím (a to stejnou měrou k těm považovaným za *D. fuchsii* jako k těm označovaným jako *D. maculata* subsp. *transsilvanica*). Není vyloučena ani možnost, že se jedná o (jedinou) čistou populaci „bělokvěté formy“ tohoto taxonu, podobně jako např. populace z lokality Poskla může být považována za čistou populaci „fialovokvěté formy“.

Otázkou tedy je, jaký je vztah mezi populacemi v Moravskoslezských Beskydách, Bílých Karpatech a na lokalitě Abrod. Navzdory běžně užívanému konceptu vnitřní taxonomie okruhu *D. maculata*, založenému na chromosomových počtech, ukazují poslední výzkumy, že situace je zřejmě daleko komplikovanější. Ståhlberg & Hedrén (2010) považují de facto *D. maculata* s. str. za polyfyletický taxon, který sdružuje dvě nezávisle vzniklé tetraploidní linie (jednu s těžištěm výskytu v jižní a západní Evropě, druhou v severovýchodní Evropě). *D. fuchsii* je pak taxonem tvořeným jednou linií diploidní a jednou (nebo i více) tetraploidní. Tetraploidní populace *D. fuchsii* se podle jejich údajů mají vyskytovat výhradně ve střední Evropě, ovšem zde mají tvořit naprostou většinu. To zřejmě platí i pro Českou republiku, jak to také prozatím potvrzují některé studie zabývající se chromosomovými počty populací *D. fuchsii* na území Čech (Měsíček & Javůrková-Jarolímová 1992, Krahulcová 2003) a jak bylo nyní zjištěno také pro Moravskoslezské Beskydy. Na základě ploidie tedy většinou nelze ve střední Evropě rozhodnout, jestli daná populace patří k *D. fuchsii*, anebo k

D. maculata s. str. Co se týče morfologických rozdílů mezi populacemi, zdá se, že největší vliv má geografická, popř. ekologická odlišnost lokality. Žádnou ze studovaných populací nebylo možné jednoznačně přiřadit k jednomu ze 2 rozlišovaných druhů. Možným řešením by mohla být molekulární studie, která by odhalila, ke které ze tří tetraploidních linií tyto populace náleží. Rostliny z Beskyd (ty považované za *D. fuchsii*, ale zřejmě i ty označované jako *D. maculata* subsp. *transsilvanica*) budou pravděpodobně náležet k linii ostatních tetraploidních *D. fuchsii* uváděných z Čech a okolních států. Populace na lokalitách Jazevčí a Abrod mohou být odvozeny buď ze stejné linie (což se jeví asi jako nejpravděpodobnější), anebo z (nejspíše) jihozápadní linie *D. maculata* s. str., a Morava by tak byla kontaktní zónou dvou tetraploidních linií (jihozápadní *D. maculata* s. str. a středoevropské tetraploidní *D. fuchsii*). Nelze však vyloučit ani hybridní původ studovaných populací, tj. vznik křížením uvedených dvou tetraploidních linií *D. maculata* agg. V každém případě však nelze předpokládat existenci reprodukčně-izolačních bariér mezi těmito populacemi a nemá zřejmě smysl tyto linie považovat za samostatné druhy. Vypadá to tedy, že na studovaném území neplatí tradiční koncept dvou samostatných druhů *D. maculata* s. str. a *D. fuchsii* (sensu Druce 1915), ale na populace *D. maculata* agg. a jejich variabilitu je potřeba dívat se mnohem komplexněji.

5. ZÁVĚR

Metodou průtokové cytometrie byl zjištěn ploidní stupeň pro 159 rostlin z okruhu *Dactylorhiza maculata*, které byly (na základě literárních údajů) považovány za tři taxony: 69 jedinců náleželo k taxonu *D. maculata* subsp. *transsilvanica*, 74 jedinců k *D. fuchsii*, 5 jedinců k taxonu *D. maculata* subsp. *maculata* a 11 rostlin nebylo možné spolehlivě zařadit. U všech analyzovaných jedinců byl zjištěn tetraploidní počet chromosomů, tedy $2n = 80$. Nebyla zjištěna žádná cytotypová variabilita mezi populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica*. Naopak bylo potvrzeno, že alespoň některé populace *D. fuchsii* ve střední Evropě jsou tetraploidní.

Šest populací považovaných za *D. maculata* subsp. *transsilvanica* bylo testováno ve 20 znacích na přítomnost signifikantního rozdílu. Ten byl prokázán u 15 analyzovaných znaků. Nejvíce odlišností vykazovala populace z lokality Abrod. Poněkud odlišná byla i populace na lokalitě Jazevčí. Nejvýznamnější morfologické rozdíly byly vysledovány na prvním listu (index délka / šířka, index výška rostliny / délka listu). Dalším významným znakem je poměr výška rostliny / počet listů.

U čtyř populací *D. maculata* subsp. *transsilvanica* a čtyř populací *D. fuchsii* ze stejné geografické oblasti (Moravskoslezské Beskydy) byl pro stejné znaky zjišťován vliv taxonu na celkovou variabilitu. Vliv taxonu byl průkazný pouze u dvou analyzovaných znaků. U čtyř znaků jej nebylo možné zjistit (nebyly splněny podmínky pro užití parametrického testu), avšak předpokládat jej lze jen u jednoho z nich (úhel druhého listu). Jediné signifikantní rozdíly mezi taxony byly opět zjištěny na prvním listu (úhel listu, index délka / šířka).

Bylo zjištěno, že morfologické odlišnosti mezi některými populacemi *D. maculata* subsp. *transsilvanica* jsou větší než odlišnosti mezi oběma taxony v oblasti Moravskoslezských Beskyd. Většina znaků uváděných v literatuře jako významné rozlišovací znaky mezi těmito taxony neposkytovala signifikantní výsledek. Vzhledem ke značné morfologické podobnosti a chybějícím reprodukčně-izolačním bariérám mezi těmito populacemi byla zpochybněna jejich klasifikace do dvou samostatných druhů, a jako vhodnější pro ně bylo navrženo užití taxonomické kategorie „forma“ na základě odlišností ve zbarvení květů a skvrnitosti listů. Postavení populací na lokalitě Abrod a Jazevčí vzhledem k populacím v Moravskoslezských Beskydech i v rámci celého okruhu *D. maculata* zůstává zatím nejasné.

6. LITERATURA

- Amich F., García-Barriuso M. & Bernardos S. (2007): Polyploidy and speciation in the orchid flora of the Iberian Peninsula. – Bot. Helv. 117: 143-157.
- Averyanov L. V. (1977): Chromosome numbers of some species of *Orchidaceae* family in Leningrad and Vologda district. – Bot. Zhurn. 62: 547-553.
- Averyanov L. V. (1979): Chromosome numbers of some species of *Orchidaceae* family from the north-western part of U.S.S.R. – Bot. Zhurn. 64(6): 863-877.
- Averyanov L. V., Averyanova E. L. & Lavrenko A. N. (1980): Caryosystematic characterization of the genus *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) in the middle Tyman. – Bot. Zhurn. 65(7): 983-989.
- Averyanov L. V. (1982): *Dactylorhiza maculata* s.l. (*Orchidaceae*) in the USSR. – Bot. Zhurn. 67(3): 303-312.
- Averyanov L. V., Averyanova E. L. & Lavrenko A. N. (1982a): The caryosystematic study of the Orchids (*Orchidaceae*) of the Pechoro-Ilyshsky reservation. – Bot. Zhurn. 67: 945-951.
- Averyanov L. V., Averyanova E. L. & Lavrenko A. N. (1982b): Caryosystematic study of orchids (*Orchidaceae*) on the territory of the Komi ASSR. – Bot. Zhurn. 67: 1491-1499.
- Bateman R. M. & Denholm I. (1989): On measuring marsh-orchids. Morphometric procedure, taxonomic objectivity and marsh-orchid systematics. – Watsonia 17: 449-462.
- Batoušek P. (1995): Zur Kenntnis von *Dactylorhiza fuchsii* (Druce) Soó ssp. *sooana* (Borsos) Borsos. – Jour. Eur. Orch. 27(1): 51-74.
- Batoušek P. (2010): *Dactylorhiza maculata* s. str. u Rejvízu v Hrubém Jeseníku. – Roetziana 40: 31-33.
- Bernátová D., Škovirová K., Kliment J., Obuch J. & Topercer J. (1993): *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó subsp. *transsilvanica* (Schur) Soó in the Kremenické vrchy Mts. – Biológia 48(4): 389-390.
- Bertolini V., Prete C. Del & Garbai F. (2000): Karyological and biometrical studies on some species of the genus *Dactylorhiza* Necker ex Nevski, sect. *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) of Central-Northern Italy. – Portugaliae Acta Biol. 19: 249-265.
- Borsos O. (1961): Geobotanische Monographie der Orchideen der pannonischen und karpatischen Flora V. – Ann. Univ. Budapest, Sect. Biol. 4: 51-82.
- Buttler K.P. (2000): Orchideje. Planě rostoucí druhy a poddruhy Evropy, Přední Asie a severní Afriky. – Ikar, Praha.

- Casas J. F., Pons-Sorolla A. & Susanna A. (1979): Números cromosómicos de plantas occidentales, 48-54. – *Anales Jard. Bot. Madrid* 36: 401-405.
- Cauwet-Marc A. M. & Balayer M. (1984): Les genres *Orchis* L., *Dactylorhiza* Necker ex Nevski, *Neotinea* Reichb. et *Traunsteinera* Reichb.: Caryologie et proposition de phylogénie et d'évolution. – *Bot. Helv.* 94/2: 391-406.
- Delforge P. (2000): Nouvelles contributions taxonomiques et nomenclaturales aux Orchidées d'Europe. – *Natural. belges* 81(4): 396-398.
- Devos N., Oh S.-H., Raspé O., Jacquemart A.-L. & Manos P. S. (2005): Nuclear ribosomal DNA sequence variation and evolution of spotted marsh-orchids (*Dactylorhiza maculata* group). – *Molec. Phylogen. Evol.* 36: 568-580.
- Doležel J., Doleželová M. & Novák F. J. (1994): Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*). – *Biol. Pl.* 36: 351–357.
- Doležel J. (1997): Application of flow cytometry for the study of plant genomes. – *J. Appl. Genet.* 38: 285-302.
- Doležel J., Greilhuber J., Lucretti S., Meister A., Lysák M. A., Nardi L. & Obermayer R. (1998): Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. – *Ann. Bot.* 82 (Suppl. A):17-26.
- Druce G. C. (1915): *Orchis maculata* L. and *O. fuchsii*. – *Rep. Bot. Soc. Exch. Club Brit. Isles* 4: 99-108.
- Dufrêne M., Gathoye J.-L. & Tyteca D. (1991): Biostatistical studies on western European *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) – the *D. maculata* group. – *Plant Syst. Evol.* 175: 55-72.
- Dundr R. & Vlačíha V. (2002): Výskyt kritických taxonů z okruhu *Dactylorhiza maculata* v Krušných horách. – *Roezliana* 31: 46-49.
- Gathoye J.-L. & Tyteca D. (1987): Etude biostatistique des *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) de Belgique et des territoires voisins. – *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* 57: 389-424.
- Heslop-Harrison J. (1951): A comparison of some Swedish and British forms of *Orchis maculata* L. sens. lat. – *Svensk Bot. Tidskr.* 45: 608-635.
- Jagiello M. & Lankosz-Mróz M. (1986-1987): Cytotaxonomic studies in the *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó group in Poland (*Orchidaceae*). – *Fragm. Florist. Geobot.*, 31-32: 385-394.
- Jagiello M. (1987): Analysis of population variability and distribution of species from the *Dactylorhiza maculata* group (*Orchidaceae*) in Poland. – *Fragm. Florist. Geobot.* 3-4: 333-383.

- Jatiová M. & Šmiták J. (1996): Rozšíření a ochrana orchidejí na Moravě a ve Slezsku. – Arca JiMfa, Třebíč.
- Klein E. & Deutsch G. (2005): *Dactylorhiza transsilvanica* (Schur) Averyanov ist definitiv keine weitere diploide Sippe aus dem *Dactylorhiza maculata* Komplex. – Jour. Eur. Orch. 37(1): 229-233.
- Krahulcová A. (1998): Karyologie cévnatých rostlin při aplikaci metod klasického barvení chromozómů. – Ms., 25 pp.
- Krahulcová A. (2003): Chromosome numbers in selected monocotyledons (Czech Republic, Hungary and Slovakia). – Preslia 75: 97-113.
- Kubát K. (2010): *Dactylorhiza* Nevski – prstnatec. – In: Štěpánková J., Chrtek J. & Kaplan Z. (eds.), Květena České republiky 8: 502-523, Academia, Praha.
- Linné C. (1753): Species plantarum. Tom.2. – Laurentius Salvius, p. 942.
- Mazzola P., Lidberg R. & Raimondo F.M. (1981): Critical notes on the Sicilian flora: The genus *Dactylorhiza* Necker ex Nevski sect. *Dactylorhiza*. – Anales Jard. Bot. Madrid 37(2): 661-676.
- Měsíček J. & Javůrková-Jarolímová V. (1992): List of chromosome numbers of the Czech vascular plants. – Academia, Praha.
- Montgomery L., Khalaf M., Bailey J. P. & Gornal K. J. (1997): Contributions to a cytological catalogue of the British and Irish flora, 5. – Watsonia 21: 365–368.
- Nordström S. & Hedrén M. (2009): Evolution, phylogeography and taxonomy of allopolyploid *Dactylorhiza* (Orchidaceae) and its implications for conservation. – Nordic J. Bot. 27: 548-556.
- Procházka F. & Velíšek V. (1983): Prstnatec. – In: Procházka F. & Velíšek V. (eds.), Orchideje naší přírody: 215-243, Academia, Praha.
- Procházka F. (ed.) (2001): Černý a červený seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v roce 2000). – Příroda, Praha.
- Procházka F. (2002): *Orchidaceae* Juss. – vstavačovité. – In: Kubát K., Hrouda L., Chrtek J., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. (eds.), Klíč ke květeně České republiky: 767-783, Academia, Praha.
- Průša D. (2005a): Orchideje České republiky. – Computer Press, Brno.
- Průša D. (2005b): *Dactylorhiza fuchsii* (Druce) Soó subsp. *sudetica* (Reichenb.) Verm. - Prstnatec Fuchsův chladnomilný. – In: Průša D., Eliáš P., Dítě D., Čačko L., Krása P., Podešva Z., Kovář L., Průšová M., Hoskovec L. & Adamec L., Chráněné rostliny České a Slovenské republiky: p. 99, Computer Press, Brno.

- Shipunov A. B., Fay M. F., Pillon Y., Bateman R. M. & Chase M. W. (2004): *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) in European Russia: Combined molecular and morphological analysis. – *Am. J. Bot.* 91(9): 1419-1426.
- Scharfenberg K. (1977): Beiträge zur Kenntnis der Sippenstruktur der Gattung *Dactylorhiza* Necker ex Nevski in den Bezirken Cottbus, Potsdam, Frankfurt (Oder) und Neubrandenburg. – *Gleditschia* 5: 65-127.
- Schur F. (1853): Sertum florum Transsilvaniae sive enumeratio systematica omnium plantarum, quae in Transsilvania sponte crescunt et in usum hominum copiosius coluntur. – *Verh. und Mittheil. des Sieb. Vereins für Naturw.*, p. 72.
- Soó R. (1962): Nomina nova generis *Dactylorhiza*. Combinationes novae ab auctore in: *Ann. Univ. Scient. Budapest Sect. Biol.* 5. (1960) non jure pleno publicatae. – *Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest*, p. 11.
- Ståhlberg D. (2007): Systematics, phylogeography and polyploid evolution in the *Dactylorhiza maculata* complex (*Orchidaceae*). – Ms., 28 pp.
- Ståhlberg D. & Hedrén M. (2008): Systematics and phylogeography of the *Dactylorhiza maculata* complex (*Orchidaceae*) in Scandinavia: insights from cytological, morphological and molecular data. – *Plant Syst. Evol.* 273: 107-132.
- Ståhlberg D. (2009): Habitat differentiation, hybridization and gene flow patterns in mixed populations of diploid and autotetraploid *Dactylorhiza maculata* s.l. (*Orchidaceae*). – *Evol. Ecol.* 23: 295-328.
- Ståhlberg D. & Hedrén M. (2010): Evolutionary history of the *Dactylorhiza maculata* polyploid complex (*Orchidaceae*). – *Biol. J. Linn. Soc.* 101: 503-525.
- Stepanov N. V. (1994): Chromosome numbers in some nemoral species of the West Sayan (Krasnoyarsk region). – *Bot. Zhurn.* 79(3): 125-128.
- Tyteca D. & Gathoye J.-L. (2003): Morphometric analyses of the *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó group in western Europe. – *Ber. Arbeitskrs. Heim. Orchid.* 20(1): 1-32.
- Tyteca D. & Klein E. (2008): Genes, morphology and biology – The systematics of *Orchidinae* revisited. – *Jour. Eur. Orch.* 40(3): 501-544.
- Vöth W. (1978): Biometrische Untersuchungen an *Dactylorhiza maculata* s. l. – Sippen in Niederösterreich (*Orchidaceae*). – *Linzer biol. Beitr.* 10(1): 179-215.
- Vöth W. & Greilhuber J. (1980): Zur Karyosystematik von *Dactylorhiza maculata* s.l. und ihrer Verbreitung, insbesondere in Niederösterreich. – *Linzer biol. Beitr.* 12(2): 415-468.

Wucherpfennig W. (2004): *Dactylorhiza transsilvanica* (Schur) Soó, eine weitere diploide Sippe aus dem *Dactylorhiza maculata*-Komplex. – Jour. Eur. Orch. 36(4): 935-950.

PŘÍLOHY

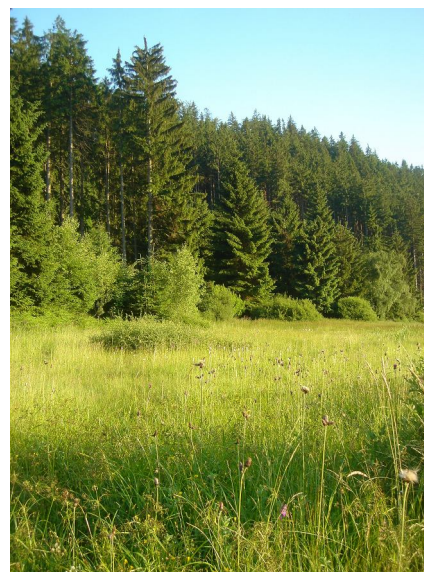
Příloha 1: Rostliny *D. maculata* subsp. *transsilvanica* z lokality Jazevčí s abnormálně pigmentovanými květy a skvrnitými listy. Pysk se znatelnou kresbou (nahore), květenství (dole vlevo a dole uprostřed) a list s nevýraznými okrouhlými skvrnami (dole vpravo).



Příloha 2: Žlutě zbarvený květ rostliny *D. maculata* subsp. *transsilvanica* na lokalitě Pod Juráškou. Detail květu (vlevo) a celé květenství (vpravo).



Příloha 3: Fotografie vybraných lokalit: Jazevčí (vlevo nahoře), Pod Juráškou (vpravo nahoře), Podgrůň (vlevo uprostřed), Kudlačena 2 (vpravo uprostřed), Smutné údolí (vlevo dole), Abrod (vpravo dole).



Příloha 4: Seznam a popis lokalit, na nichž byly prováděny obě analýzy (morfometrická a karyologická)

lokality	popis lokality	GPS
Abrod	Záhorská nížina, obec Závod, NPR Abrod, mokřadní louka ve východní části rezervace	48°32'60"N 17°00'15"E
Jazevčí	Bílé Karpaty, obec Javorník, ochranné pásmo NPR Jazevčí, mezofilní louka na SV orientovaném svahu	48°51'58"N 17°33'57"E
Kudlačena 1	Moravskoslezské Beskydy, obec Horní Bečva, jižně orientované svahové prameniště na pozemcích okolních chat, poměrně dobře zastíněné stromy	49°25'39"N, 18°19'21"E
Kudlačena 2	Moravskoslezské Beskydy, obec Horní Bečva, PP Kudlačena, podmáčená louka na prameništi vč. bezprostředního okolí pramene	49°25'53"N, 18°19'34"E
Podgrůň	Moravskoslezské Beskydy, obec Staré Hamry, PP Podgrůň, silně podmáčená vrchovištní louka na prameništi potoka Jamník	49°29'12"N, 18°28'29"E
Pod Juráškou	Moravskoslezské Beskydy, obec Prostřední Bečva, PP Pod Juráškou, silně podmáčená mokřadní louka	49°26'48"N, 18°16'17"E
Podlízaná	Moravskoslezské Beskydy, obec Horní Bečva, svahové prameniště nad restaurací v osadě Podlízaná, dále pás stromů podél příkopu oddělující rekreační zařízení a také přilehlá louka	49°25'15"N, 18°20'51"E
Poskla	Moravskoslezské Beskydy, obec Hutisko-Solanec, PP Poskla II., mokrá rašelinná louka, poměrně dobře zastíněná okolními stromy	49°26'17"N, 18°13'25"E
Smutné údolí	Moravskoslezské Beskydy, obec Bílá, údolí Smutné, v příkopu podél cesty, především po levé straně při pohledu proti proudu řeky	49°24'53"N, 18°27'05"E