

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Katedra botaniky



Morfologická a cytotypová variabilita vybraných populací okruhu

*Dactylorhiza incarnata*

Bakalářská práce

Adam Kantor

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie a ekologie

Forma studia: Prezenční

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

Konzultant: Mgr. Vojtěch Taraška

Olomouc 2016

## **Bibliografická identifikace**

**Jméno a příjmení autora:** Adam Kantor

**Název práce:** Morfologická a cytotypová variabilita vybraných populací okruhu  
*Dactylorhiza incarnata*

**Typ práce:** Bakalářská

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

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

**Rok obhajoby:** 2016

**Abstrakt:** Práce se zaměřuje na morfometrickou a karyologickou analýzu populací z pěti lokalit, na kterých byly rozlišeny tři taxony patřící do taxonomicky problematického okruhu *Dactylorhiza incarnata*. Výsledky průtokové cytometrie odhalily sigifikantní rozdíl v relativním obsahu DNA mezi vzdálenými populacemi. Lze však předpokládat, že se rostliny z žádné z populací neodlišovaly jiným stupněm ploidie. Na základě morfometrických analýz byla u naprosté většiny studovaných znaků prokázána signifikantní odlišnost mezi některými populacemi. Téměř se mezi sebou nelišily populace považované za dva taxony ze stejné lokality. Mnohorozměrné analýzy poukázaly na největší odlišnost populací z lokalit Kolo a Nowiny, které se také nejčastěji odlišovaly od ostatních při analýze jednotlivých znaků. Hodnoty morfologických znaků byly srovnány s literaturou a bylo potvrzeno, že velký vliv na mnoho znaků měly pravděpodobně podmínky prostředí a další vlivy, například specifický management na lokalitě Abrod. Na základě poznatků práce nebylo možné ustanovit přesné závěry o hodnotě taxonů rozlišovaných v rámci okruhu *Dactylorhiza incarnata*. Bylo však navrženo několik hypotéz, kterých testování by mohlo být předmětem dalšího studia.

**Klíčová slova:** *Dactylorhiza incarnata* agg., průtoková cytometrie, morfometrika, smíšené populace, taxonomie

**Počet stran:** 106

**Počet příloh:** 2

**Jazyk:** český

## **Bibliographical identification**

**Author's first name and surname:** Adam Kantor

**Title:** Morphological and cytotypic variability of selected populations  
of *Dactylorhiza incarnata* 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:** 2016

**Abstract:** This thesis is focused on morphometric and karyological analysis of populations from five locations, on which there were three taxa identified, belonging to taxonomically problematic *Dactylorhiza incarnata* group. Results of flow cytometry showed significant difference in relative content of DNA between distant populations. However, it is assumed that no difference in ploidy level was found among plants of any population. In majority of studied characters, a significant difference between some populations was found by means of morphometric analysis. Almost no differentiation was found between populations considered as two different taxa from same locality. Multivariate analyses pointed out the biggest divergence of populations from locations Kolo and Nowiny, which were also most frequently differentiated from other populations in single character analyses. Values of measured morphological characters were compared with literature data. It was stated, that environmental conditions and other influences, for example locality management on Abrod, had considerable impact on many of measured characters. Based on knowledge obtained from this study, it would not be right to establish exact conclusions about taxonomic value of taxa belonging to *Dactylorhiza incarnata* group. However, few hypotheses were proposed, which could be tested and used as the object of future studies

**Keywords:** *Dactylorhiza incarnata* agg., flow cytometry, morphometrics, mixed populations, taxonomy

**Number of pages:** 106

**Number of appendices:** 2

**Language:** Czech

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně pod vedením  
Doc. RNDr. Bohumila Trávníčka, Ph.D. (vedoucí práce) a Mgr. Vojtěcha Tarašky  
(konzultant práce) a s použitím uvedené literatury.

V Olomouci dne 2. 8. 2016

.....

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěl především poděkovat svému školiteli Bohumilu Trávníčkovi, za velmi příjemný přístup, veškeré odborné rady a podrobné opravy mých textů, ale také za možnost pracovat na zajímavém tématu. Stejnou mírou děkuji Vojtovi Taraškovi, za neuvěřitelnou trpělivost při mých opakovaných chybách, za pomoc nejen s pochopením celé problematiky, ale také s praktickou součástí mé práce, od statistických analýz, přes zaučení v terénu až po pomoc s cytometrií. Dále děkuji přítelkyni, přátelům a rodině, za podporu při psaní, ale i při mém studiu a zálibách, za to, že se mám vždy o koho opřít.

## OBSAH

1. Úvod .....	8
1.1 Rod <i>Dactylorhiza</i> .....	8
1.2 <i>Dactylorhiza incarnata</i> agg. ....	9
1.3 Charakteristika taxonů <i>Dactylorhiza incarnata</i> agg. ....	10
1.3.1 <i>Dactylorhiza *incarnata</i> .....	10
1.3.2 <i>Dactylorhiza *serotina</i> .....	12
1.3.3 <i>Dactylorhiza *pulchella</i> .....	13
1.3.4 <i>Dactylorhiza *haematodes</i> .....	14
1.3.5 <i>Dactylorhiza *cruenta</i> .....	14
1.3.6 <i>Dactylorhiza *ochroleuca</i> .....	15
1.3.7 <i>Dactylorhiza *coccinea</i> .....	16
1.3.8 Poznámky k dalším taxonům příbuzným <i>D. incarnata</i> agg. ....	17
2. Cíle vlastní výzkumné práce .....	18
3. Materiál a metodika .....	19
3.1 Rostlinný materiál .....	19
3.2 Morfometrická analýza .....	21
3.2.1 Sběr a typy dat .....	21
3.2.2 Statistické zpracování .....	27
3.3 Karyologická analýza .....	28
3.3.1 Stanovení DNA ploidního stupně metodou průtokové cytometrie .....	28
3.3.2 Statistické zpracování .....	29
4. Výsledky .....	30
4.1 Karyologické studium .....	30
4.2 Morfometrické studium .....	32
4.2.1 Analýza metodou hlavních komponent (PCA) .....	32
4.2.2 Fenetická analýza .....	36
4.2.3 Testování rozdílů mezi taxony a populacemi pomocí testu hierarchická ANOVA .....	39
4.2.4 Analýza mezipopulačních rozdílů u jednotlivých znaků .....	41
4.2.5 Binárně kódované kvalitativní znaky .....	87
5. Diskuze .....	89

5.1 Karyologické studium .....	89
5.2 Morfometrické studium .....	90
5.3 Hodnocení studovaných populací .....	96
5.4 Navrhované taxonomické členění .....	98
6. Závěr .....	101
7. Použité zdroje .....	102

# 1. ÚVOD

## 1.1 Rod *Dactylorhiza*

Prstnatec (*Dactylorhiza* Necker ex Nevski) je rod jednoděložných rostlin patřící do čeledi *Orchidaceae*, podčeledi *Orchidoideae*, tribu *Orchideae* a subtribu *Orchidinae* (Procházka 1980, Průša 2005). Ve starší klasifikaci byl tento rod považován za součást širěji pojatého rodu *Orchis* L., později označován jako *Orchis* subgen. *Dactylorchis* Klinge. *Dactylorhiza* jako samostatný rod byl poprvé vyčleněn až v roce 1937 (Hunt & Summerhayes 1965).

Rod prstnatec je obecně považován za taxonomicky problematický (Pedersen 1998, Hedrén 2001). Infragenerické členění prošlo v historii mnoha změnami, kdy byl rod různě rozčleněn v sekce a podsekce, skupiny a agregáty (např. Pedersen 1998, Shipunov et al. 2004). Jedno z dnes nejvíce uznávaných členění (viz např. Hedrén et al. 2001, Inda et al. 2010) je rozdělení rodu do pěti skupin: 1) diploidní *D. incarnata* agg., 2) diploidní i autopolyploidní *D. maculata* agg., 3) alopolyploidní taxony vzniklé hybridizací mezi prvními dvěmi skupinami, např. *D. majalis* (Rchb.) P. F. Hunt et Summerh., 4) diploidní taxony, které se pravděpodobně nepodílely na evoluci alopolyploidů, např. *D. iberica* (M. Bieb. ex Willd.) Soó a 5) diploidní i alopolyploidní taxony vzniklé křížením *D. sambucina* (L.) Soó a *D. romana* (Sebast.) Soó .

Do rodu patří 25-75 druhů, z toho 6-49 se vyskytuje na území Evropy. Velké rozdíly v počtu akceptovaných druhů jsou způsobeny rozdílným taxonomickým pojetím, zejména rozdílnou hodnotou akceptovaných taxonů u různých autorů (Kubát 2010). Situaci komplikuje vysoká frekvence mezidruhového křížení i mezi druhy s rozdílnou ploidií a relativně častý vznik stabilizovaných hybridogenních taxonů (Aagaard et al. 2005, Pillon et al. 2007, De Hert et al. 2012).

Předpokládá se, že mnohé z dnes známých tetraploidních druhů vznikly hybridizací (spojenou s polyploidizací) dvou rodičovských taxonů, jednoho z okruhu prstnatce plamatého (*D. maculata* agg.) a druhého ze skupiny diploidního prstnatce pleťového (*D. incarnata* agg.), Hedrén et al. 2001, Devos et al. 2006, Baumann et al. 2009, Nordström & Hedrén 2009. K mezirodové hybridizaci dochází zejména se zástupci těch rodů, jež mají (stejně jako *Dactylorhiza*) dělené hlízy, např. *Gymnadenia* R. Br. ex Ait. f. a *Pseudorchis* Ség.



(Baumann et al. 2009). Molekulární studie také potvrdily, že rod *Dactylorhiza* je s těmito rody blízce příbuzný (Bateman et al. 2003).

Rod prstnatec je rozšířen na většině území Evropy, Asie, v severní Africe, vzácněji pak v Severní Americe a střední Asii (Baumann et al. 2009, Kubát 2010). Centrum druhové diverzity se nachází v severozápadní Evropě (Delforge 2006), avšak hlavním centrem genetické a fylogenetické diverzity je Kavkaz a Středomoří (Pillon et al. 2006).

## 1.2 *Dactylorhiza incarnata* agg.

Okruh *D. incarnata* zahrnuje 15 taxonů (Delforge 2006), pět z nich se má vyskytovat ve střední Evropě (Vlčko et al. 2000a, Šuvada et al. 2010): *D. \*incarnata*, *D. \*cruenta*, *D. \*haematodes*, *D. \*ochroleuca* a *D. \*pulchella*. Kvůli značné variabilitě a odlišnostem v pojetí druhů a infraspecifických taxonů v rámci skupiny dle různých autorů se ale počet rozlišovaných taxonů v jednotlivých pracech značně liší (Pillon et al. 2007). V rámci okruhu je patrná proměnlivost hlavně ve výšce rostliny, délce květenství, rozměrech a barvě květů, v počtu a rozměrech listů a listenů (Pikner 2012), ale i v době kvetení, skvrnitosti listů a tvaru pysku (Bateman & Denholm 1985).

Znaky charakterizující tento okruh jsou: dutá lodyha s dutinou zabírající více jak polovinu průměru příčného řezu, vzpřímené, obvykle znenáhla zašpičatělé listy zakončené kápoitou špičkou a relativně malé květy (Procházka 1980). Jeden z dalších spolehlivých znaků, přítomný u všech zástupců, má být dvojité obloukové kresba ve tvaru podkovy na pysku (Pikner 2012). Kresba pysku chybí například u taxonu *D. incarnata* subsp. *ochroleuca* (Wustnei ex Boll) P. F. Hunt & Summerhayes (dnes zejména v molekulárně systematických pracech považovaném pouze za varietu) a taky u jedinců se sníženým obsahem antokyanů v květech, zejména u tzv. „albínů“ (Bateman & Denholm 1985). I když je skvrnitost listů vizuálně nápadným a často používaným znakem, někteří autoři zdůrazňují, že není vhodné přikládat mu příliš velkou váhu při taxonomické klasifikaci (Bateman & Denholm 1985, Hedrén & Nordström 2009). Na rozdíl od morfologické variability, karyologicky je *D. incarnata* agg. velmi málo variabilní. Všichni zástupci jsou diploidní, s počtem chromozomů  $2n = 40$  (Hedrén et al. 2001, Pillon et al. 2007).

Problémy s taxonomickým členěním skupiny vyplývají z nejednotnosti taxonomických konceptů užívaných různými autory, mnohá epiteta proto byla

nakombinována pro více taxonomických kategorií, od druhu až po varietu, či dokonce formu (Bateman & Denholm 1985). Příkladem může být *D. incarnata* subsp. *ochroleuca* (takto je tento žlutokvětý typ hodnocen např. v pracích Potůček 1969 a Baumann et al. 2009), kterou jiní autoři považují za druh (např. Buttler 2000, Presser 2002) nebo naopak jen za varietu (Vallius et al. 2008, Pedersen 2009). V jiných případech bylo vytvořeno více jmen pro populace, které možná patří ke stejnému taxonu. V tomto případě jde například o možnou totožnost *D. incarnata* subsp. *pulchella* (Druce) Soó s taxonem *D. incarnata* subsp. *serotina* (Hauskn.) Soó et D. M. Moore (Presser 2002, Procházka 2010).

Areál rozšíření okruhu zaujímá území od západní Evropy po střední Asii a od jižní Evropy a Malé Asie až po Skandinávii na severu (Nordström & Hedrén 2009).

### **1.3 Charakteristika taxonů *D. incarnata* agg.**

Studovaný okruh bývá někdy chápán jako široce vymezený druh *D. incarnata* (L.) Soó s mnoha vnitrodruhovými taxony různé taxonomické hodnoty (např. Procházka 1980). V takovém pojetí by níže popsané taxony byly považovány za poddruhy, případně variety a formy, přičemž jiní autoři (Dítě 2002, Delforge 2006) některé z nich považují za samostatné druhy. Pro zjednodušení textu jsou epiteta taxonů s nejednoznačnou taxonomickou hodnotou předznamenána hvězdičkou (\*). Názory na jejich postavení jsou pak uvedeny u každého taxonu zvlášť. Důraz je kladen na taxony rostoucí na území České a Slovenské republiky, a zejména na ty, které jsou studovány v této práci.

#### **1.3.1 *Dactylorhiza \*incarnata***

**Popis:** Byliny s 25–60(–100) cm vysokou dutou a snadno smáčknutelnou, zeleně zbarvenou (neskvrnitou), téměř rovnoměrně olistěnou lodyhou. Listy v počtu (3–)5–7, lupenité, neskvrnité, 12–31 cm dlouhé a až 4 cm široké, vzpřímené, téměř souběžné s lodyhou, nejširší u báze, postupně se znenáhla k vrcholu zužující, zakončené kápovitou špičkou. Nejhořejší 1–3 lodyžní listy redukované, často až šupinovité, kopinaté. Květenství do 15 cm dlouhé, s (15–)20–50(–60) růžově červenými, přibližně 1 cm velkými květy. Listeny relativně dlouhé, přesahující květy. Tobolka 14–18 mm dlouhá a 5–8 mm široká (Kubát 2010, Procházka 2010). Bateman & Denholm (1985) považují za nejdůležitější znaky pro identifikaci nominátního

poddruhu dlouhé květenství s počtem květů nad 25, lodyhu tlustou alespoň 6 mm v průměru, relativně široké listy a květy zbarvené bledě růžově až červeně. Kvete v květnu a červnu.

**Rozšíření a ekologie:** Roste na půdách bohatých na živiny, na pobřežních částech vodních nádrží a na bažinných, rašelinných a slatinných loukách (Jersáková & Kindlmann 2004). Za výškové maximum rozšíření se udává 2100 m n. m. (Buttler 2000), resp. 2400 m n.m. (Baumann et al. 2009). Taxon je rozšířen ve většině Evropy, včetně Britských ostrovů a Skandinávie, na jihu po severní Španělsko, severní Itálii a severní polovinu Balkánského poloostrova. V Asii zasahuje rozšíření od Malé Asie a Kavkazu až po Sibiř a severozápadní Čínu (Procházka 1980, Průša 2005). V ČR patří mezi vzácnější taxony rodu *Dactylorhiza*. V Čechách je jeho výskyt méně častý než na Moravě. Roste v Polabí, méně často v severních a východních, ještě vzácněji v jižních Čechách. Na Moravě je těžiště rozšíření v Bílých Karpatech, ve Ždánickém lese a vzácně na jižní, jihovýchodní a severovýchodní Moravě (Jatiová & Šmiták 1996, Průša 2005).

**Ohrožení:** V nejnovějším červeném seznamu České republiky (Grulich 2012) je taxon uveden jako kriticky ohrožený (C1b), na území Slovenské republiky je zařazený do skupiny NT, tj. druhů potenciálně ohrožených (Eliáš et al. 2015).

**Taxonomie a poznámky:** Z podřazených taxonů Kubát (2010) uvádí var. *macrophylla* (Schur) Soó, která zahrnuje vysoké rostliny se širokými listy a dlouhými listeny, které svou délkou až dvojnásobně přesahují květy, nebo var. *extensa* Hartman ke které naopak patří nízké rostliny s úzkými listy a listeny nanejvýš o kousek přesahujícími květy. Jméno *D. incarnata* var. *macrophylla* je uváděné jako synonymum pro epiteta var. *latissima* (Zapal.) Hyl. a var. *gemmana* Pugsley, přičemž někteří autoři přiznávali těmto morfotypům i hodnotu subspecie označované pak jako *D. incarnata* subsp. *gemmana* (Pugsley) P. D. Sell (Heslop-Harrison 1954, Bateman & Denholm 1985). Robustní, nízké, velkokvěté rostliny z Nizozemska bývají někdy označovány jako var. *lobelii* Verm. (Baumann et al. 2009). V rámci variet jsou často rozlišovány také formy, často definované na základě odchylky jen v jednom znaku. Pikner (2012) popisuje f. *ovata* Pikner charakteristickou oválným, nečleněným pyskem s kresbou redukovanou na jeden oblouk a řídkším květenstvím s maximálně 20 květy. Procházka (1980) rozlišoval navíc kromě výše uvedených variet v rámci nominální var. *incarnata* kromě nominální f. *incarnata* ještě například f. *brevicalcarata* (Rchb.) Soó s ostruhou dlouhou přibližně jako půlka semeníku, f. *angustispicata* (Verm.) Soó s úzkým květenstvím širokým nanejvýš 15 mm,

f. *trifurca* (Rchb.) Soó se zřetelně trojlaločným a prodlouženým pyskem nebo f. *multiangulata* (Verm.) Soó s pyskem pětiúhelníkovitým.

### 1.3.2 *Dactylorhiza \*serotina*

**Popis:** Byliny s 20–35(–45) cm vysokou dutou lodyhou. Listy v počtu 2–3(–4), lupenité, úzce kopinaté, poměrně úzké, 9–12 cm dlouhé a široké do 1,5 cm, na celé ploše listu nebo při okraji obvykle pokryté drobnými, světle hnědými okrouhlými skvrnkami. Nejhořejší (0)1–2(3) lodyžní listy drobné, listenovité. Květenství dlouhé 4–8 cm, s 5–20(–30) květy, které jsou zbarveny tmavším odstínem než u subsp. *serotina* (Kubát 2010). Presser (2002) uvádí, že jedinci subsp. *serotina* (Hauskn.) Soó et D.M. Moore se podobají štíhlým, málo vyrostlým rostlinám subsp. *incarnata* s nápadně krátkým květenstvím. Od nominátní subsp. se odlišuje i jinou fenologií. Kubát (2010) uvádí, že kvete v červenci. Podle Procházky (1980) nejméně o 3 týdny později než nominátní varieta.

**Rozšíření a ekologie:** V ČR je areál *D. \*serotina* omezen na několik mikrolokalit v okolí Doks u Máchova jezera a Poselského rybníku. Roste na mokřinách, v řídkých porostech rákosu, v olšinách a na okrajích rybníků (Kubát 2010). Někdy se na lokalitě vyskytuje na okrajových plochách, příliš chudých na živiny pro subsp. *incarnata* (Presser 2002). S ohledem na malý vzrůst snáší jen velmi nízký podrost vegetace (Presser 2002). Roste ve většině zemí střední a severní Evropy, ale údajně i v Rusku a na Britských ostrovech (Procházka 1980, Kubát 2010).

**Ohrožení:** Taxon je v červeném seznamu ČR (Grulich 2012) uváděn pod jménem *D. incarnata* subsp. *serotina* jako kriticky ohrožený (C1r).

**Taxonomie a poznámky:** viz příslušný komentář u *Dactylorhiza \*pulchella*.

### 1.3.3 *Dactylorhiza \*pulchella*

**Popis:** Byliny s 15–40 cm vysokou dutou lodyhou. Listy v počtu 3–4, neskvrnité, široké pouze 0,7–2 cm. Květenství 4–7 cm dlouhé, s 10–40 tmavě růžovými až fialovými květy (Delforge 2006). Bateman & Denholm (1985) považují za nejdůležitější znaky pro determinaci subsp. *pulchella* tmavě fialovou barvu květů s tmavou kresbou a přítomnost antokyanů v listenech. Považují tento poddruh za nejméně odlišný od nominátního poddruhu. Kvete v červnu až srpnu (Delforge 2006).

**Rozšíření a ekologie:** Taxon se má od nominátního poddruhu odlišovat také svým výskytem na kyselých rašeliníštích, čímž by byl efektivně ekologicky izolován. Mimo to je ale uváděn i ve společnosti ostatních poddruhů na neutrálních nebo mírně zásaditých mokřinách (Bateman & Denholm 1985). Slovenští autoři (např. Dítě 2002) například považují za *D. pulchella* (Druce) Averyanov drobné morfotypy, často rostoucí ve smíšených populacích s *D. incarnata*.

**Ohrožení:** Na Slovensku je tento taxon pod označením *D. pulchella* klasifikován jako zranitelný (VU), Eliáš et al. (2015).

**Taxonomie a poznámky:** Existují různé názory na taxonomickou příslušnost populací popsaných z Německa jako *D. incarnata* subsp. *serotina* a populací popsaných z Anglie jako *D. incarnata* subsp. *pulchella*. Buttler (2000) obě jména považuje za synonymní. Jiní autoři považují totožnost těchto taxonů za možnou, nepřiklání se však ke konečnému stanovisku (např. Delforge 2006, Presser 2002). Baumann et al. (2009) rozlišují var. *serotina* (Hauskn.) Soó rostoucí ve střední Evropě, charakteristickou menším vzrůstem a pozdější dobou květu, a var. *pulchella* (Druce) Soó, vyznačující se nachově fialovou barvou květu s rozšířením na Britských ostrovech. Soó (1980) považuje oba taxony za samostatné poddruhy, subsp. *pulchella* pak považuje za endemický poddruh Britských ostrovů. Podle Piknera (2012) je var. *borealis* (Neuman) Hyl, popsaná ze Skandinávie, také velmi podobná těmto pozdně kvetoucím taxonům a je možné, že se jedná o další synonymum. Fenologické vymezení *D. \*pulchella* oproti nominátnímu typu není natolik jasné jako u *D. \*serotina*. Delforge (2006) uvádí, že *D. \*pulchella* kvete 2 týdny po *D. \*incarnata*. Ve vyšších polohách se však tyto rozdíly v době květu mohou údajně minimalizovat až zmizet (Dítě 2002). Bateman & Denholm (1985) pozorovali u subsp. *pulchella* začátek kvetení průměrně pouze o 4-7 dní později než u nominátní subspecie.

#### 1.3.4 *Dactylorhiza \*haematodes*

**Popis:** Ve většině znaků se má poddruh subsp. *haematodes* (Rchb.) Soó shodovat se subsp. *incarnata*, rozdíl má být pouze v přítomnosti skvrn na svrchní straně lodyžních listů (Průša 2005). Jako subsp. *hyphaematodes* (Neum.) Landwehr (Presser 2002), var. *hyphaematodes* (Neum.) Landwehr (Buttler 2000, Delforge 2006) nebo f. *hyphaematodes* (Neum.) Soó (Procházka 1980) bývají pak označovány rostliny skvrnitě po obou stranách listů. Skvrny jsou husté, tmavohnědé nebo nachové barvy, listeny a vrchní část lodyhy jsou také skvrnitě, případně zbarveny tmavě fialově. Intenzita barvy má po začátku kvetení klesat (Procházka 1980, Presser 2002).

**Ohrožení:** Na Slovensku je subsp. *haematodes* řazena do kategorie EN - ohrožených druhů (Eliáš et al. 2015), v České republice tento taxon v aktuálním seznamu cévnatých rostlin uveden není (Daníhelka et al. 2012) a potažmo není tedy hodnocen ani z hlediska ohrožení (Grulich 2012). Nálezy podobných rostlin jsou známé i z území ČR, není však vyloučeno, že se jedná o křížence *D. ×aschersoniana* (Hauskn.) Borsos et Soó (Kubát 2010).

**Taxonomie a poznámky:** Taxon je podle některých názorů hybridogenního původu, výsledkem křížení *D. incarnata* a *D. majalis* (Procházka 1980, Delforge 2006). Přímý kříženec těchto dvou druhů, označovaný jménem *D. ×aschersoniana*, však není s *D. \*haematodes* identický (Procházka 1980). S *D. \*haematodes* však lze podle Piknera (2012) ztotožnit var. *reichenbachii* Gathoye & Tyteca. Taxon *D. \*hyphaematodes* někdy tvoří čisté oddělené populace (Presser 2002, Delforge 2006)

#### 1.3.5 *Dactylorhiza \*cruenta*

**Popis:** Byliny s 15–35(–50) cm vysokou, poměrně tlustou lodyhou. Listy v počtu 3–5, lupenité, často nazpět zahnuté, oválně kopinaté, dlouhé 4–10(–15) cm a široké 1–2,5(–3,5) cm, intenzivně fialově až hnědě skvrnitě po obou stranách. Vrchní část lodyhy a listeny nachově naběhlé nebo skvrnitě. Květenství 3–8 cm dlouhé, oválné, s pouze 8–30(–35) květy (Delforge 2006). Od skvrnitých *D. \*haematodes* a *D. \*hyphaematodes* se liší kratšími, nazpět zahnutými listy, světlejší barvou květů a naopak tmavšími skvrnami na listech, které se často slévají až v celé zbarvené plochy (Pikner 2012). *D. \*cruenta* kvete v červnu až červenci (Delforge 2006), přibližně o 1 až 2 týdny později než nominátní *D. \*incarnata* (Heslop-Harrison 1954).

**Rozšíření a ekologie:** Roste na mokřích loukách, slatinách, bažinách, často v blízkosti borových lesů, v Alpách až do výšky 2400 m n. m. Vyskytuje se ve východní a severní Evropě, v Pobaltí, temperátní zóně Asie až po Jakutsko (Buttler 2000, Bauman et al. 2009).

**Ohrožení:** Tento taxon je uveden v červeném seznamu Slovenské republiky (Eliáš et al. 2015) jako druh kriticky ohrožený (CR), z území České republiky není zmiňován (Průša 2005a, Danihelka et al. 2012).

**Taxonomie a poznámky:** Bateman & Denholm (1985) navrhli zahrnutí *D. \*haematodes* a *D. \*hyphaematodes* do poddruhu *D. incarnata* subsp. *cruenta* (O.F.Möller) P.D.Sell. Samotná *D. \*cruenta* je také v různých zdrojích klasifikována v různých kategoriích. Někteří autoři tento typ považují za formu (např. Hedrén & Nordstrom 2009), jiní za varietu (Hedrén 2009), poddruh (např. Aagaard et al. 2005) ale i za samostatný druh (Buttler 2000, Delforge 2006).

### 1.3.6 *Dactylorhiza \*ochroleuca*

**Popis:** Byliny s (30–)50–90 cm vysokou dutou lodyhou. Listy v počtu 4–6, lupenité, neskvřité, relativně krátké, přímé a s lodyhou téměř souběžné. Květenství 5–15 cm dlouhé, s krémově bílými až žlutými květy (Delforge 2006). Bateman & Denholm (1985) považují za nejdůležitější znaky tohoto taxonu dlouhé květenství se světle žlutě zbarvenými květy, s pyskem zřetelně vykrajovaně trojlaločným a dlouhé listeny. Kveté v červnu a červenci (Delforge 2006).

**Rozšíření a ekologie:** Areál *D. \*ochroleuca* je rozdělen v arelu alpskou a pobaltsko-východokarpatskou. Mimoto rozšířením zasahuje i do jižní Anglie a Švédska. Roste od nížin po pahorkatiny, do výšky 850 m n. m., na mokřích loukách, rašeliništích a slatinách. Vyžaduje vysokou hladinu spodní vody (Průša 2005b, Baumann et al. 2009) a vápnlitý, zásaditý substrát (Vallius et al. 2004). Z území České republiky taxon není uváděn (Danihelka et al. 2012), na sousedním Slovensku má jednu známou lokalitu na Záhorí v NPR Abrod, kde byl v roce 1994 po delší době znovu nalezen (Dítě 2002). Je ohrožen potenciaálními změnami ve vodním režimu a zarůstáním náletovými dřevinami (Průša 2005). V současnosti je vypracován program pro jeho záchranu na uvedené lokalitě (Čačko 1995, Vlčko et al. 2000b).

**Ohrožení:** V červeném seznamu SR (Eliáš et al. 2015) je *D. \*ochroleuca* v hodnotě druhu uváděna jako kriticky ohrožený taxon (CR).

**Taxonomie a poznámky:** Žlutavou barvou květů je *D. \*ochroleuca* zdánlivě podobná taxonu *D. incarnata* f. *ochrantha* Landwehr, liší se však od něj o něco pozdější dobou kvetení, více členěným pyskem i odstínem zbarvení, konkrétně intenzivnější žlutou barvou a tmavší žlutou skvrnou na bázi pysku (Průša 2005b). Znamé jsou i záměny s jedinci se sníženým obsahem antokyanů ve květech, patřícími do jiných taxonů okruhu *D. incarnata* (Bateman & Denholm 1985). Foley (2000) na základě morfometrických analýz porovnal populace rostlin popisovaných jako *D. incarnata* subsp. *ochroleuca* z Anglie, Švédska, Estonska a Německa a potvrdil jejich příslušnost k jedinému taxonu. Jiné morfologické znaky než barva květu *D. \*ochroleuca* se překrývají se znaky *D. \*incarnata* a oba taxony se často vyskytují společně na jedné lokalitě. Proto Hedrén a Nordstrom (2009) na základě svého výzkumu na ostrově Gotland přistupují ke zmíněným dvěma typům jako ke dvěma varietám (var. *incarnata* a var. *ochroleuca*). Jiní autoři jí ale hodnotí jako subsp. *ochroleuca* (např. Potůček 1969, Baumann et al. 2009). Podle Batemana a Denholma (Bateman & Denholm 1985) je naopak *D. \*ochroleuca* morfologicky od ostatních taxonů okruhu *D. incarnata* nejodlišnější a zaslouží si pravděpodobně pozici samostatného druhu. Na úrovni druhu je uvedena například i v knize Chráněné rostliny České a Slovenské republiky (Průša 2005a).

### 1.3.7 *Dactylorhiza \*coccinea*

**Popis:** Byliny s 5–15(–25) cm vysokou, v horní části fialově naběhlou lodyhou. Listy v počtu 5–10, tmavě zelené, neskvřnité, nazpět zahnuté a výrazně u země nahloučené, dlouhé do 21 cm a široké až 4,5 cm. Květenství husté a krátké, s 20–40(–100) malými, červeně až rudě zbarvenými květy. Kvete v červnu a červenci, přibližně 2 týdny po *D. \*incarnata* (Delforge 2006).

**Rozšíření a ekologie:** Roste na Britských ostrovech, na mokřích svazích a sníženinách dun, na pobřežních loukách a na slatiništích, v nadmořské výšce do 200 m n. m. (Buttler 2000, Baumann et al. 2009).

**Taxonomie a poznámky:** Taxon s velmi podobnou dobou kvetení a taky ekologickými nároky je *D. \*lobelii*, zmíněná v charakteristice *D. \*incarnata*. Po studiu obou těchto taxonů byla původní var. *lobelii* povýšena na subspecii (s kontinentálním rozšířením v Evropě), zatímco subsp. *coccinea* (Pugsley) Soó je chápána jako taxon přímořských pobřežních oblastí Britských ostrovů (Pedersen 2001). Možná je i totožnost s f. *dunensis* (Druce) Soó, uváděnou z kontinentální části Evropy (Bateman & Denholm 1985).



### 1.3.8 Poznámky k dalším druhům příbuzným *D. incarnata* agg.

Kromě výše charakterizovaných taxonů je možné v literatuře najít množství dalších infraspecifických taxonů, kterým je přisuzována různá taxonomická hodnota, z nichž některé jsou patrně totožné nebo je jejich postavení nejasné, případně jsou jejich jména neplatná.

Jako další taxony z okruhu *D. incarnata* je možné uvést například *D. incarnata* subsp. *baumgartneriana* Baumann, údajně endemit Ázerbájdžánu (Akhalkatsi et al. 2003, Baumann et al. 2009) nebo *D. incarnata* subsp. *\*jugicrucis* Akhalk., Lorenz et Mosul. rostoucí v Gruzii (Akhalkatsi et al. 2007). U některých dalších taxonů, jako je např. druh *Dactylorhiza euxina* (Nevski) Czerep., endemit Blízkého východu, byla na základě sekvenace ITS (Bateman et al. 2003) a analýzy allozymů (Hedrén 2001) zjištěna blízká příbuznost s *D. incarnata*, i když se morfologicky blíží spíše k *D. majalis*. Pro účely některých studií byl tento taxon proto považován za součást skupiny *D. incarnata* (Bateman et al. 2003, Shipunov et al. 2004, Pillon et al. 2007). Další taxony, z hlediska příbuznosti podobné tomuto případu, jsou *D. osmanica* (Klinge) Soó, *D. umbrosa* (Karelin et Kirilow) Nevsky (Hedrén 2001), případně *D. armeniaca* Hedrén (Delforge 2006). Na základě sekvenace ITS byly v práci Batemana a kol. (Bateman et al. 2003) k linii *D. incarnata* přiřazeny i allotetraploidní *D. \*ebudensis* a *D. \*purpurella* rostoucí ve Skotsku, i když morfometrické a AFLP analýzy poukazovaly na jejich příbuznost s *D. \*traunsteineri*.

## 2. CÍLE VLASTNÍ VÝZKUMNÉ PRÁCE

Práce je zaměřena na studium vztahů mezi taxony *Dactylorhiza \*incarnata*, *D. \*serotina* a *D. \*haematodes* z okruhu *D. incarnata* agg. na pěti lokalitách na území České republiky, Slovenska a Polska. Pomocí morfometrických a cytometrických analýz byla zjišťována variabilita v rámci uvedeného okruhu a pomocí biostatistického vyhodnocení výsledků se práce snaží najít odpovědi na následující otázky:

- 1) Existuje cytotypová variabilita mezi studovanými taxony a populacemi?
- 2) Jakými morfologickými znaky se mezi sebou liší populace z různých lokalit studovaného území?
- 3) Liší se mezi sebou smíšené populace *D.\*incarnata* a *D. \*hyphaematodes* na dvou studovaných lokalitách jinými znaky než skvrnitostí listů?

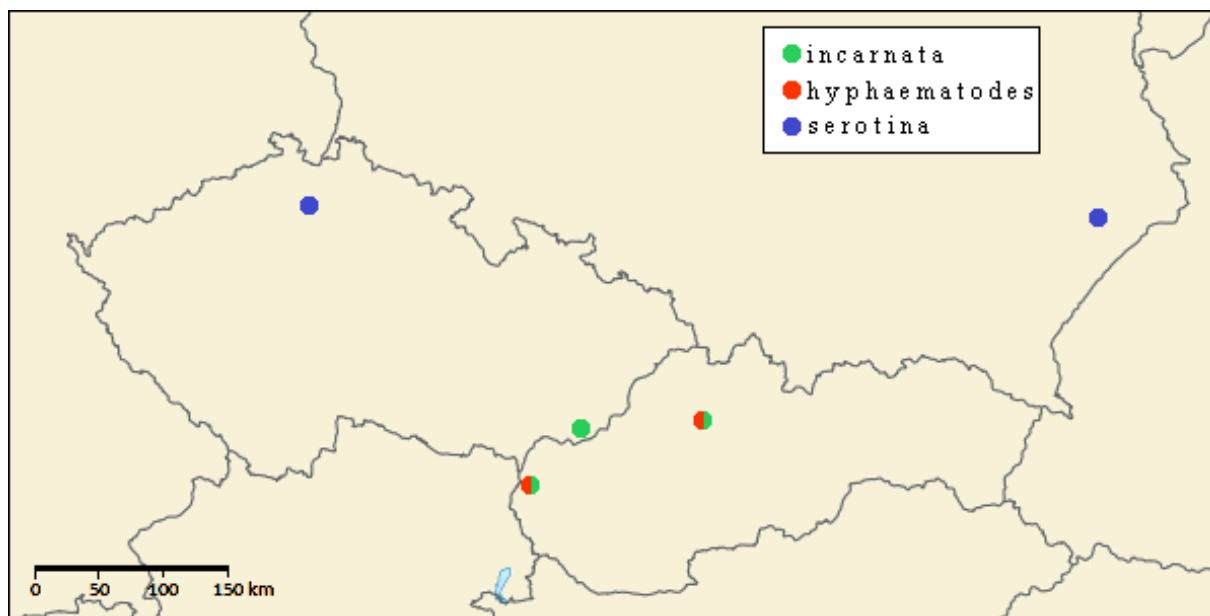
### 3. MATERIÁL A METODIKA

#### 3.1 Rostlinný materiál

Data pro morfometrickou a karyologickou analýzu byla sbírána v květnu až červenci roku 2015. Všechny studované populace byly před analýzou apriorně přiřazeny k určitému taxonu na základě údajů z literatury a po vizuálním vyhodnocení morfologických znaků na místě (zejména podle přítomnosti či absence skvrn na listech u populací *D. \*incarnata* a *D. \*haematodes*).

Sběr dat probíhal na pěti lokalitách a analyzováno bylo celkem sedm populací (na lokalitách Abrod a Příbovce byly na základě morfologických znaků rozlišovány dva taxony, *D. \*incarnata* a *D. \*haematodes*, které byly analyzovány vždy jako dvě samostatné populace). Dvě lokality se nacházely v severozápadní a jihozápadní části Slovenska, další na moravské straně Bílých Karpat, v severních Čechách a na jihovýchodě Polska (viz obr. 1). Podrobnější popis lokalit s upřesněním jejich polohy se nachází v tabulce 1.

Z každé populace bylo pro morfometrickou analýzu vybráno 14-20 dobře vyvinutých kvetoucích rostlin. Více než u poloviny rostlin analyzovaných morfometricky v každé populaci byla provedena také karyologická analýza průtokovou cytometrií pro stanovení DNA-ploidního stupně. Jednotlivé rostliny byly označeny číselným kódem. Zkratky a čísla použité v práci pro označení lokalit a taxonů jsou shrnuty v tab. 2. V tabulce 3 jsou uvedeny počty rostlin použitých pro dané analýzy.



Obr. 1: Mapa lokalit studovaných populací. Barva symbolu reprezentuje taxon, ke kterému byla populace apriorně přiřazena. Dvoubarevně jsou označeny smíšené populace.

Tab. 1: Stručný popis lokalit, na kterých byly prováděny morfometrické a karyologické analýzy.

Lokalita	Popis	Nadm. výška [m.n.m.]	Souřadnice
Abrod	Záhorská nížina, NPR Abrod, obec	150	N 48°32.006'
	Závod, nezastíněná mokřadní louka		E 016°59.966'
Kolo	Bílé Karpaty, soukromá rezervace	510	N 48°54.097'
	Kolo, obec Suchov, mokřadní louka na okraji lesa v blízkosti pramene		E 017°37.497'
Nowiny	JV Polsko, obec Nowiny, rašelinná tůňka zarostlá rákosem	270	N 50°26.589' E 023°09.722'
Obora	Dokeská pahorkatina, Obora, část obce Doksy, mokřadní louka v blízkosti Robečského potoka	280	N 50°32.522' E 014°40.495'
Príbovce	Turčianska kotlina, obec Příbovce, mokřad obklopen porostem vrb v blízkosti Blatnického potoka	430	N 48°59.488' E 018°53.735'

Tab. 2: Zkratky lokalit, jejich číslování a zkratky taxonů použité v této práci. Kombinací zkratky lokality a taxonu je pak vyjádřena konkrétní populace na dané lokalitě.

Číslo lokality	Název lokality	Zkratka	Taxon	Zkratka
1	Kolo	Kol	<i>incarnata</i>	I
2	Abrod	Abr	<i>hyphaematodes</i>	H
3	Obora	Obo	<i>serotina</i>	S
4	Nowiny	Now		
5	Príbovce	Pri		

Tab. 3: Počty rostlin použitých pro morfometrickou a karyologickou analýzu z jednotlivých lokalit a na základě příslušnosti k taxonu.

Lokalita	Morfometrická analýza				Karyologická analýza			
	I	H	S	Celkem	I	H	S	Celkem
Abrod	15	15	0	30	15	15	0	30
Kolo	20	0	0	20	11	0	0	11
Nowiny	0	0	18	18	0	0	10	10
Obora	0	0	20	20	0	0	18	18
Príbovce	15	14	0	29	11	10	0	21
Celkem	50	29	38	117	37	25	28	90

### 3.2 Morfometrická analýza

#### 3.2.1 Sběr a typy dat

Pro morfometrickou analýzu byla data získána celkem ze 117 jedinců ze sedmi populací (viz tab. X). V rámci populace byly rostliny vybírány náhodně. Výběr byl proveden pouze z neporušených, kvetoucích rostlin.

Na lokalitách Abrod a Příbovce rostly smíšeně rostliny, které byly identifikovány jako *D. \*incarnata* a *D. \*hyphaematodes*. Společně s nimi se ale na lokalitě také vyskytoval

druh *D. majalis*. Doba kvetení všech tří taxonů se překrývá a může mezi nimi snadno dojít k hybridizaci. Pro analýzu byly proto vybírány pouze rostliny, u nichž mohl být na základě morfologie vyloučen vznik recentní hybridizací. Na lokalitách Abrod a Příbovce byli jako *D. \*hyphaematodes* označeni jedinci vzrůstem a tvarem listů odpovídající nominální subspecii, od níž se lišili oboustranně skvrnitými listy.

Na lokalitách Obora a Nowiny byly populace klasifikovány jako *D. \*serotina* zejména na základě pozdní doby kvetení a štíhlejšího habitu rostlin ve srovnání s nominální subspecii, přičemž na lokalitě Obora je toto určení podpořeno také údaji z literatury (Kubát 2010).

Na lokalitě Kolo v Bílých Karpatech nebyla zjištěna přítomnost jiných taxonů z rodu *Dactylorhiza* a na základě určovacích znaků byly rostliny přiřazeny k *D. \*incarnata*.

Jelikož je druh *D. incarnata*, včetně jeho poddruhů, považován za ohrožený do různé míry ve všech třech státech kde studium probíhalo, bylo nutné většinu znaků měřit na lokalitě na živých rostlinách. Výjimkou bylo šest znaků měřených na květech.

Všechny znaky dále použité ke statistickému zpracování, byly rozděleny do čtyř kategorií:

- 1) kvantitativní znaky měřeny na nadzemní části rostliny, kromě znaků na květech;
- 2) znaky na květech měřeny dodatečně z naskenovaného materiálu;
- 3) indexy, tj. sekundární znaky vypočteny z primárních kvantitativních znaků;
- 4) ordinálně vyjádřené kvalitativní znaky vyhodnocené vizuálně.

Výběr vhodných znaků a indexů pro účel tohoto studia byl proveden na základě podobných analýz v literatuře (Bateman & Denholm 1985, Gathoye & Tyteca 1987, Bertolini et al. 2000, Hedrén & Nordström 2009) a s ohledem na důležité znaky pro determinaci taxonů z okruhu *Dactylorhiza incarnata* (viz výše - kapitola 1.2).

Čtrnáct kvantitativních znaků bylo měřeno na rostlinách přímo na lokalitě. Tyto znaky podávají informace zejména o tvaru a postavení listů, ale také o celkovém vzrůstu a habitu jedince. Pro měření těchto znaků bylo použito upravené pravítko, digitální posuvné měřítko, úhломěr a svinovací metr.

Dalších 6 znaků bylo měřeno na květech, konkrétně na pysku. Z každé analyzované rostliny bylo odebráno 3-5 celých květů spolu se semeníkem. Květy byly odebrány nůžkami ze spodní poloviny květenství, přičemž nejspodnější květ byl vyloučen, jelikož se často od ostatních květů výrazně odlišuje svou velikostí a tvarem. Květy z jedné rostliny byly

uchovány po dobu nejdéle několika dní v chladu, uzavřené v lahvičce s kusem vlhkého papírového kapesníku. Co nejdříve byl z květů vypreparován celý pysk s ostruhou. Ten byl pomocí krycích skel a preparační jehly vyrovnán a zafixován na skleněné ploše skeneru. Takto byly do řádků vedle sebe připraveny pysky všech odebraných květů z jedné rostliny a poté s přiloženým měřítkem a označením čísla rostliny naskenovány v rozlišení 300-600 dpi. Ze získaných obrázků byl pro každého jedince vybrán jeden nejlépe zachovaný pysk. Pomocí programu ImageJ bylo poté na naskenovaném pysku měřeno šest znaků. Ty jsou zobrazeny na obr. 2.

Ze zbytku nasbíraného materiálu byly dále využity semeníky a brylky, které byly použity pro stanovení DNA ploidní úrovně. Seznam kvantitativních znaků spolu s jednotkami je uveden v tab. 4. Některé z těchto celkem 20 znaků byly použity pro výpočet 16 indexů. Takto vypočítané sekundární bezjednotkové znaky jsou méně ovlivněny ekologickými podmínkami prostředí nebo rozkvetlostí jedince, mohou mít proto větší hodnotu pro porovnání určitých morfologických vlastností, než samotné absolutní hodnoty použité pro jejich výpočet. Použité indexy a vzorce pro jejich výpočet jsou uvedeny v tab. 5.

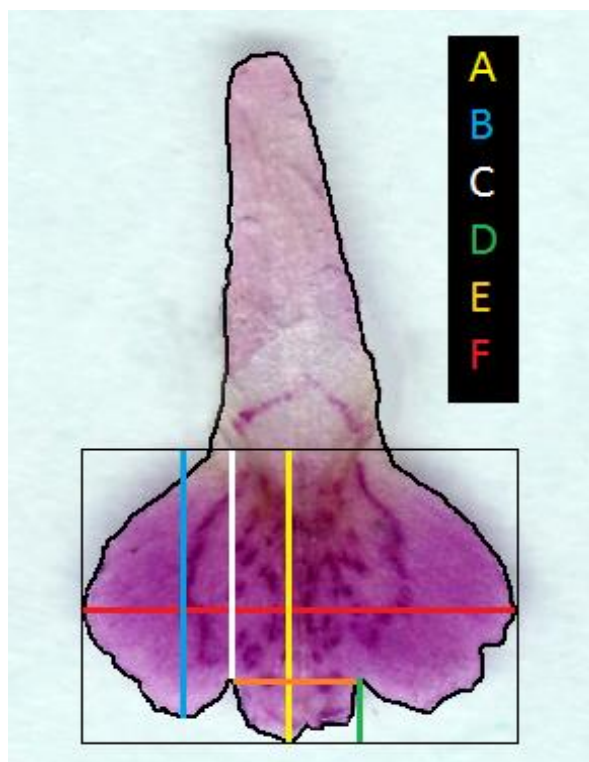
Přímo na lokalitě bylo vyhodnocováno také 21 kvalitativních znaků. Tyto znaky vyjadřovaly například zbarvení různých částí rostliny, skvrnitost listů, zakřivení listů a další. U znaků nebylo možné stanovit číselně hodnotu, pouze znak vizuálně vyhodnotit. Pro možnost další práce s daty byly tyto znaky kódovány binárně. Pro každý znak byly vytvořeny dvě kategorie (stavy vyjádřeny číslicí 0 nebo 1) a u každé rostliny proběhlo zařazení do jedné z nich. Některé z těchto znaků byly použity pro účely mnohorozměrných analýz. Seznam kategoriálních znaků použitých v této práci je uveden v tab. 6. Na každém jedinci bylo různými způsoby vyhodnoceno a zpracováno celkem 57 znaků.

V celé práci je pod pojmem „výška rostliny“ myšlena celková délka její nadzemní části, tedy lodyhy s květenstvím. Znak tedy nebyl ovlivněn zakřivením nebo abnormálním růstem lodyhy. Za první a druhý list byl vždy považován nejdolejší list a další nad ním, přičemž nikdy nebyl brán do úvahy malý nezelený šupinatý list, občasné se vyskytující u báze lodyhy.

Tab. 4: Seznam kvantitativních znaků měřených pro morfometrickou analýzu s použitými jednotkami a zkratkami.

<b>Znak</b>	<b>Zkratka</b>	<b>Jednotka</b>
výška rostliny	Vys	cm
délka květenství	d_Kvet	mm
délka 1. internodia	Int_1	mm
délka 2. internodia	Int_2	mm
průměr lodyhy pod květenstvím	prum_Lod	mm
počet lodyžních listů	listy	-
délka 1. listu	d_L1	mm
šířka 1. listu	s_L1	mm
vzdálenost nejširšího místa 1. listu od báze listu	M_L1	mm
úhel 1. listu vůči lodyze	uhel_L1	stupně
délka 2. listu	d_L2	mm
šířka 2. listu	s_L2	mm
vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze listu	M_L2	mm
úhel 2. listu vůči lodyze	uhel_L2	stupně
délka pysku	A	mm
délka postranního laloku pysku od báze pysku	B	mm
vzdálenost báze postranního úkrojku od báze	C	mm
délka středního úkrojku pysku	D	mm
šířka středního úkrojku pysku	E	mm
šířka pysku	F	mm





Obr. 2: Znaky A – F měřené na pysku květu. Barva písmen odpovídá čárám, které zobrazují znaky.

Tab. 5: Seznam indexů použitých pro morfometrickou analýzu se vzorcem pro jejich výpočet.

Index	Výpočet
Výška rostliny/ Délka květenství	$V_{ys} / d\_Kvet$
Výška rostliny / Počet listů	$V_{ys} / listy$
Výška rostliny / Průměr lodyhy	$V_{ys} / prum\_Lod$
Poměr internodií	$Int\_2 / Int\_1$
Výška rostliny / 1. internodium	$V_{ys} / Int\_1$
Výška rostliny / 2. internodium	$V_{ys} / Int\_2$
Výška rostliny / Délka 1. listu	$V_{ys} / d\_L1$
Výška rostliny / Délka 2. listu	$V_{ys} / d\_L2$
Délka / Vzdálenost nejširšího místa od báze 1. listu	$d\_L1 / M\_L1$
Délka / Vzdálenost nejširšího místa od báze 2. listu	$d\_L2 / M\_L2$
Délka / Šířka 1. listu	$d\_L1 / s\_L1$
Délka / Šířka 2. listu	$d\_L2 / s\_L2$
Heslop-Harrisonův index	$2A / (B + C)$
Poměr délky středního úkrojku	$A / D$
Poměr šířky středního úkrojku	$F / E$
Poměr délky a šířky pysku	$A / F$

Tab. 6: Seznam kategoriálních znaků s jejich zkratkami. Vysvětlení kategorií, které byly u znaků rozeznávány a kódovány číslicemi 0 a 1.

Znak	Zkratka	Rozeznávané kategorie	
		0	1
zakřivení 1. listu	zacr_L1	téměř nebo úplně rovný	zakřivený
žlábkovitost 1. listu	zlab_L1	maximálně mírně žlábkovitý	výrazně žlábkovitý
tvár vrcholu 1. listu	vrch_L1	tupý	špičatý
zakřivení 2. listu	zacr_L2	téměř nebo úplně rovný	zakřivený
žlábkovitost 2. listu	zlab_L2	maximálně mírně žlábkovitý	výrazně žlábkovitý
tvár vrcholu 2. listu	vrch_L2	tupý	špičatý
zbarvení lodyhy pod květenstvím	b_Lod_f	zelená	zbarvena fialově
zbarvení vřetene květenství	b_Vret_f	zelené	zbarveno fialově
délka listenu vzhledem k semeníku	d_Listen	kratší než semeník	delší než semeník
zbarvení listenů	b_Ln_f	zelený	zbarven fialově
délka nejhořejšího listu vzhledem ke květenství	list_kv	dosahuje maximálně báze květenství	přesahuje bázi květenství
přítomnost skvrn na listech	skvrn_1	přítomny	beze skvrn
přítomnost drobných tečkovitých skvrn v okrajové části listu (typ „serotina“)	skvrn_2	beze skvrn tohoto typu	skvrny tohoto typu přítomny
přítomnost výrazných plošných skvrn po celé ploše listu (typ „haematodes“)	skvrn_3	beze skvrn tohoto typu	skvrny tohoto typu přítomny
zbarvení pysku	b_Pysk_t	bledě růžové až světle fialové	tmavě fialové
zbarvení ostatních okvětních lístků	b_Okv_t	bledě růžové až světle fialové	tmavě fialové
přítomnost kresby na pysku	kres	nepřítomna	přítomna
intenzita kresby na pysku	kres_int	vymytá (nezřetelná)	intenzivní
zbarvení ostruhy	b_Ost_t	bílé nebo světle růžové	fialové
délka ostruhy vzhledem k semeníku	rd_Ost	delší než semeník	kratší než semeník
zakřivení ostruhy	zacr_Ost	téměř nebo úplně rovná	zakřivená

### 3.2.2 Statistické zpracování

Veškerá data sesbírána pro účely morfometrické analýzy byla přepsána do tabulky v programu MS Excel. Nejdříve byly u každého kvantitativního znaku spočítány popisné statistiky (aritmetický průměr, standardní chyba průměru, směrodatná odchylka, medián a minimální a maximální hodnota) pro jednotlivé populace. Tyto jsou uvedeny v tabulkách u analýzy jednotlivých znaků.

Rozdíly v jednotlivých znacích mezi populacemi byly testovány jednocestnou analýzou variance (jednocestná ANOVA). Pokud data nesplňovala podmínky pro použití této metody, byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Pro znaky byla zjištěna hodnota F (resp. H u neparametrického testu) a hladina významnosti p. Za signifikantní výsledek byla považována hodnota  $p \leq 0,05$ . Pokud byl mezi populacemi zjištěn signifikantní rozdíl v daném znaku, byl následně použit Tukey-Kramerův test, nebo jeho neparametrická alternativa, pro vzájemné porovnání populací. Jako grafický výstup analýzy každého znaku byly vytvořeny krabičkové diagramy, zobrazující variabilitu jednotlivých populací. Horní a spodní ohraničení krabičky odpovídá hornímu a dolnímu kvartilu ( $x_{75}$  a  $x_{25}$ ). Horizontální čára uvnitř znázorňuje medián a vousy vyjadřují 1,5 násobek mezikvartilového rozpětí (IQR). Odlehle hodnoty (outliers) jsou znázorněny červenými tečkami, ležícími mimo rozpětí vousů. Tyto hodnoty byly pro účely statistických testů a výpočet průměrů, standardních chyb a odchylek vyloučeny. Naopak pro výpočet mediánů a tvorbu boxplotů byly ponechány.

Dále byl statisticky srovnáván vliv populace a taxonu na celkovou variabilitu znaku. Pro tento případ byl použit test hierarchická ANOVA, kde faktor populace byl podřízený faktoru taxon. Kromě analýzy variability v rámci jednotlivých znaků byly provedeny mnohorozměrné analýzy: analýza hlavních komponent (PCA) a fenetická analýza (UPGMA). Veškeré analýzy byly provedeny v programu NCSS 9, pouze pro tvorbu ordinačních diagramů v analýze PCA byl použit program Canoco.

### 3.3 Karyologická analýza

#### 3.3.1 Stanovení DNA ploidního stupně metodou průtokové cytometrie

Pro stanovení DNA ploidního stupně u rostlin ze všech populací byla použita metoda průtokové cytometrie. Pro tento účel byl z každé rostliny odebrán květ se středně vyvinutým semeníkem. Rostlinný materiál, který byl odebrán z jednoho jedince, byl zabalen do navlhčeného papírového kapesníku, uložen do potravinářského plastového sáčku a uchováván v chladu.

Samotné měření proběhlo v cytometrické laboratoři Ústavu experimentální botaniky v Olomouci, na cytometru SysmexML. Bylo postupováno dle standardního protokolu pro analýzu vzorku s vnitřním standardem (Doležel et al. 2007a). Jelikož pro cytometrickou analýzu orchidejí není vhodné pletivo listů (Trávníček et al. 2015), byly k přípravě vzorků použity semeníky, případně brylky. Jako vnitřní standard byl ve většině případů použit hrách (*Pisum sativum*) s velikostí genomu  $2C = 8,76$  pg, v případě nejasností byla analýza zopakována s kukuřicí (*Zea mays*) s velikostí genomu  $2C = 5,43$  pg (Doležel et al. 2007b). Pletivo analyzované rostliny bylo spolu se stejným množstvím standardu homogenizováno žiletkou v petriho misce v 1 ml LB01 pufru (Doležel et al. 2007a). Suspenze byla filtrována přes 30 $\mu$ m nylonový filtr do zkumavky s 300 ml LB pufru. Následně bylo přidáno 30  $\mu$ l barviva DAPI.

V každém vzorku bylo analyzováno minimálně 3000 jader. Výsledky s  $CV > 5$  byly vyřazeny a měření bylo zopakováno. Výstupem cytometrie je histogram zobrazující počet jader v závislosti na jejich relativní velikosti. Na každém histogramu byl identifikován pík odpovídající jádrům standardu v G1 fázi a jeden či několik píků odpovídajících jádrům analyzované rostliny (v různém stupni endoreplikace). Index byl vypočítán jako podíl hodnoty  $2C$  píku analyzované rostliny k hodnotě  $2C$  píku standardu. Zjištěné indexy od různých jedinců byly použity pro statistické porovnání relativního obsahu DNA mezi rostlinami všech analyzovaných populací a stanovení jejich DNA ploidního stupně.

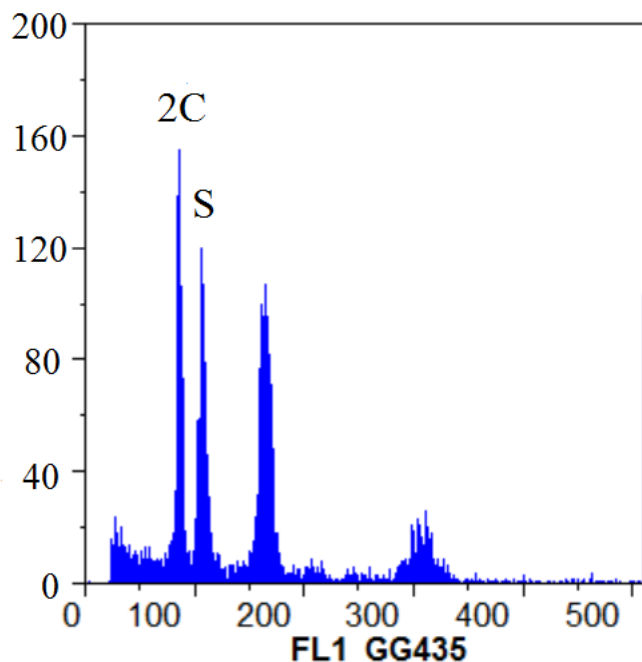
### 3.3.2 Statistické zpracování

Celkem bylo po vyloučení nepoužitelných dat k dispozici 95 měření na 90 rostlinách, z toho 73 ze semeníku a 22 z brylek. V pěti případech bylo provedeno měření ze semeníku i brylek na stejném jedinci. Z analýz byla odstraněna vícenásobná měření ze stejného materiálu stejného jedince. V tomto případě byl zvolen výsledek s přesnějším měřením, tedy nižším CV. Ke statistickým analýzám bylo tedy použito 90 měření. Výsledné srovnávané indexy nespĺňovaly podmínky pro použití testu jednocestná ANOVA, pro srovnání variability mezi populacemi byl proto použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Při vytváření krabičkových diagramů zobrazujících variabilitu v indexu mezi populacemi, bylo několik indexů označených jako odlehlé hodnoty. Po odstranění těchto hodnot byly už podmínky splněny a data byla otestována také metodou jednocestná ANOVA. Veškeré statistické testy byly prováděny v programu NCSS 9.

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1 Karyologické studium

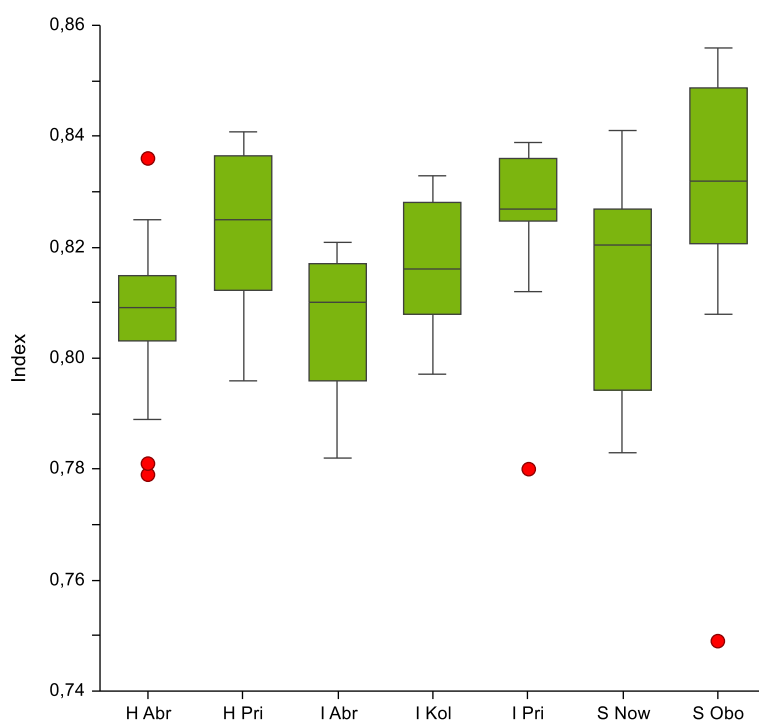
Pro vyhodnocení průtokové cytometrie byly použity indexy, vypočítané jako podíl polohy 2C píku vzorku k poloze píku použitého standardu. Data nesplňovala podmínky pro užití parametrického testu jednocestná ANOVA, byl proto použit neparametrický Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal signifikantní rozdíly v hodnotě indexu mezi populacemi ( $H = 26,796$ ;  $P < 0,001$ ;  $df = 6$ ). Hodnoty indexů v jednotlivých populacích jsou znázorněny krabičkovými diagramy na obrázku 4. Bylo zjištěno pět odlehlých hodnot, po jejichž vyloučení již bylo možné použít parametrický test, kdy byla nulová hypotéza opět zamítnuta ( $F_{6,76} = 8,48$ ,  $P < 0,001$ ). Rozdíly mezi populacemi byly také analyzovány Tukey-Kramerovým testem, jehož výsledky jsou shrnuty v tab. 8. Popisné statistiky vyjadřující variabilitu v zjištěném indexu v populacích jsou uvedeny v tab. 7. Příklad histogramu z měření relativního obsahu DNA viz obr. 3.



Obr. 3: Grafický výstup měření relativního obsahu DNA průtokovým citometrem. Na ose x je 512 kanálová stupnice, na ose y počet částic. 2C označuje hlavní (2C) pík analyzované rostliny, v tomto případě *D. \*incarnata* z lokality Kolo. Písmeno S označuje 2C pík použitého vnitřního standardu (*Pisum sativum*) o velikosti genomu 8,76 pg. Další dva nižší píky napravo představují píky prstnatce označované 2C+P a 2C+3P.

Tab. 7: Shrnutí základních statistických údajů o hodnotách indexu vyjadřujícího relativní obsah DNA ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	11	0,819	0,013	0,003	0,797	0,842	0,819
I Abrod	15	0,807	0,011	0,003	0,782	0,821	0,810
H Abrod	15	0,807	0,015	0,004	0,779	0,836	0,809
S Obora	18	0,832	0,025	0,006	0,749	0,856	0,837
S Nowiny	10	0,813	0,019	0,006	0,783	0,841	0,821
I Pribovce	11	0,828	0,018	0,005	0,780	0,847	0,834
H Pribovce	10	0,826	0,015	0,005	0,796	0,850	0,828



Obr. 4: Krabičkový diagram vyjadřující variabilitu populací ve vypočteném indexu vyjadřujícím relativní obsah DNA zjištěný metodou průtokové cytometrie.

Tab. 8: Rozdíly v indexu mezi populacemi zjištěné Tukey-Kramerovým testem. Signifikantní rozdíl je vyjádřen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

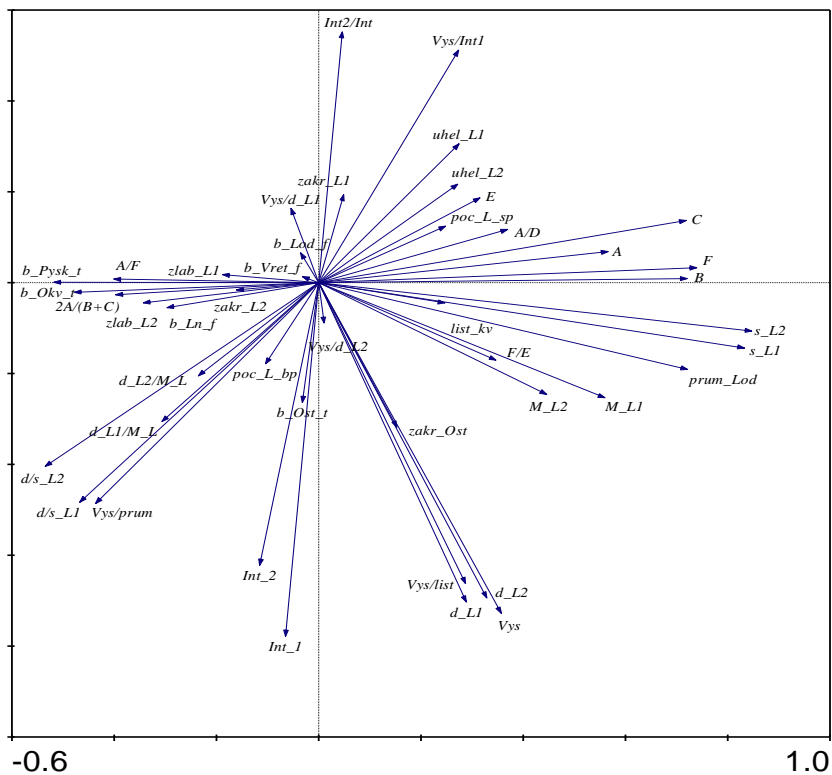
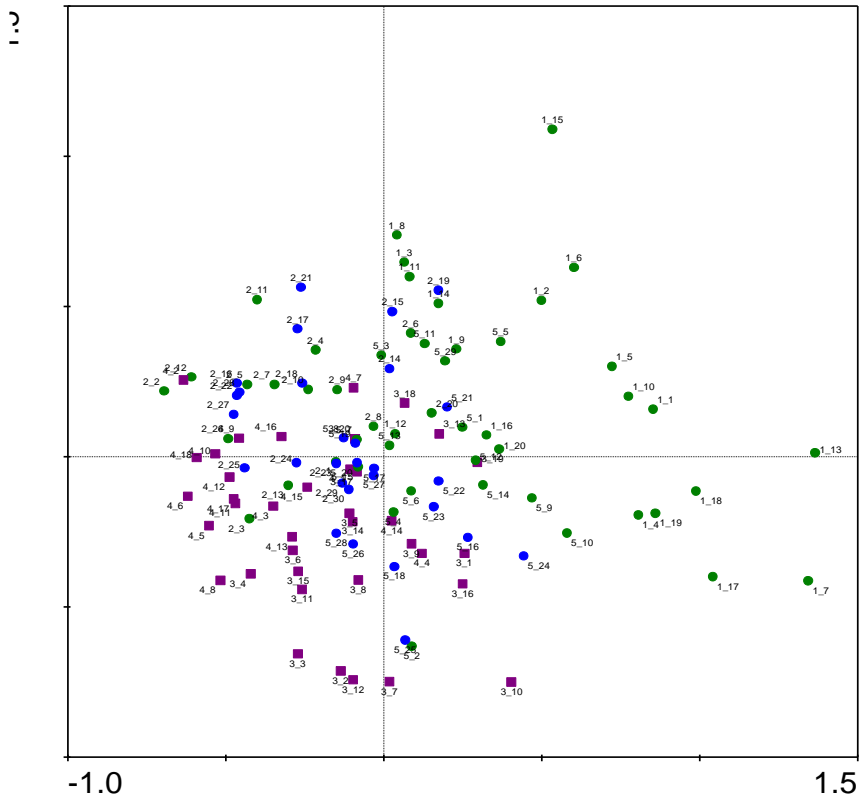
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	+	-	-	-
I Abr	-	0	-	+	-	+	-
H Abr	-	-	0	+	-	+	-
S Obo	+	+	+	0	+	-	-
S Now	-	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	+	+	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

## 4.2 Morfometrické studium

### 4.2.1 Analýza metodou hlavních komponent (PCA)

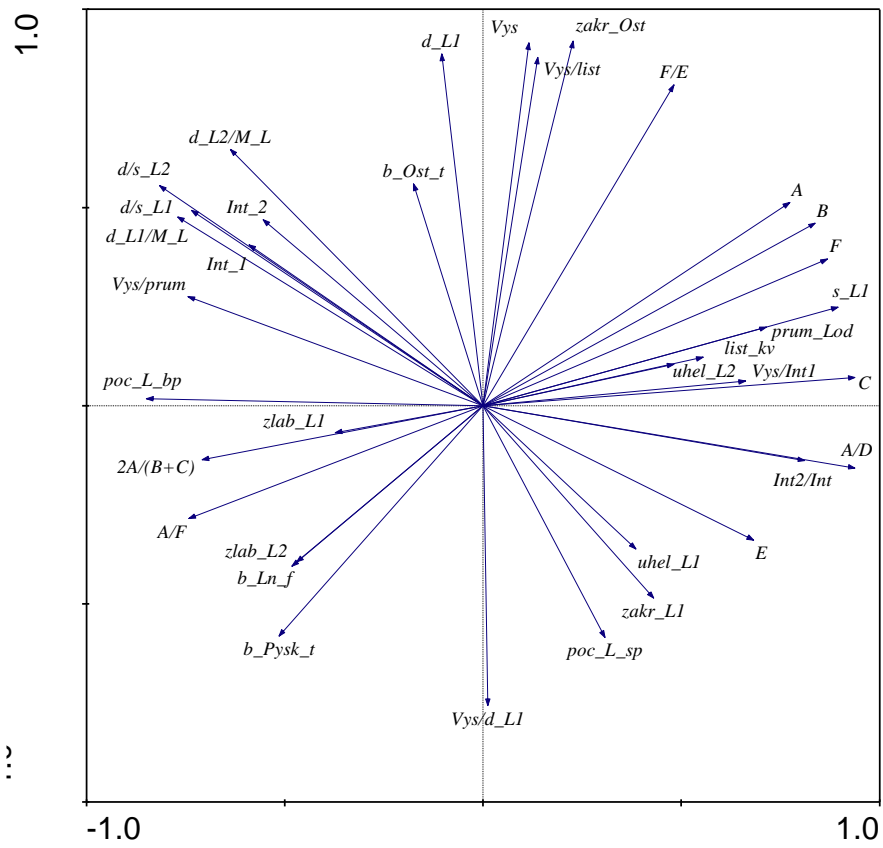
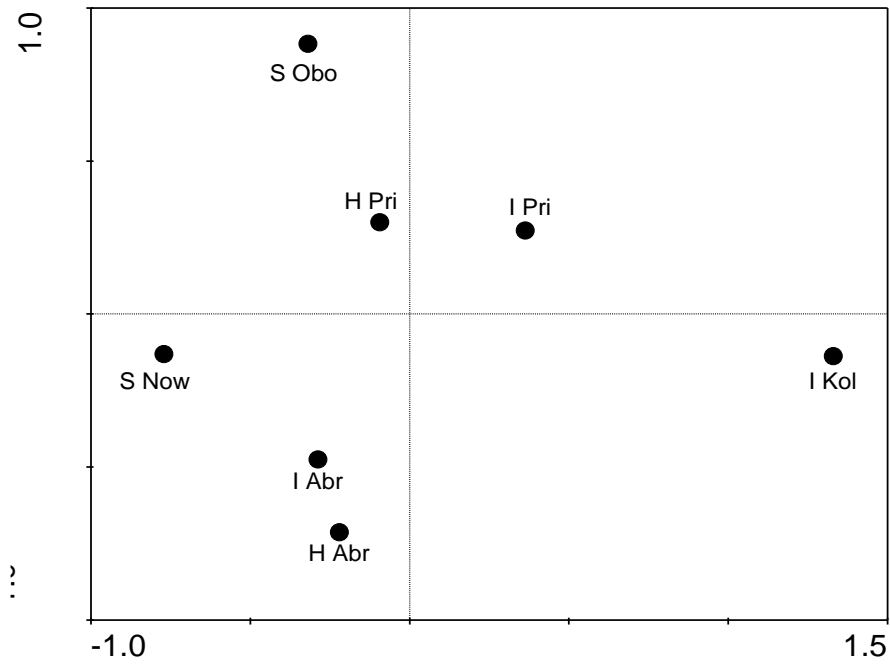
Pro účely analýzy morfologické variability mezi populacemi byla nejprve použita metoda PCA. Před provedením PCA analýzy byla zjišťována vzájemná korelace všech znaků. Z analýz byly vyřazeny silně korelované znaky (Pearsonův koeficient > 0,95). Obrázek 5 zobrazuje diagram distribuce jednotlivých rostlin v prostoru prvních dvou os a korelaci použitých znaků s těmito osami. Pro analýzu byly použity všechny kvantitativní, kvalitativní i sekundární znaky kromě několik výjimek. Vyloučeny byly znaky d\_Kvet a od něj odvozené indexy (souvisí s rozkvetlostí jedince a populace byly analyzovány v různý čas), znak D měřený na květech (teoreticky odpovídá rozdílu znaků A a C) a tři znaky týkající se skvrnitosti listů (na základě těchto znaků byli jedinci apriorně přiřazeni k taxonu). Žádné znaky nebyly silně korelované. První osa vysvětluje 16,5 % celkové variability a koreluje s ní zejména znaky měřené na květech a z nich vypočítané indexy, ale také znaky týkající se zbarvení pysku a okvěti a charakterizující tvar listů. Druhá osa vysvětluje 11,2 % celkové variability a nejlépe s ní koreluje znaky týkající se celkového vzrůstu rostliny, jakými je např. délka prvních dvou internodií a jejich poměr, nebo také výška. Jedinci *D. \*incarnata* a *D. \*serotina* tvoří neúplně oddělené shluky v ordinačním prostoru, *D. \*hyphaematodes* pak vyplňují prostor mezi nimi.





Obr. 5: Analýza hlavních komponent (PCA) zobrazující v prostoru prvních dvou os distribuci jednotlivých rostlin všech populací pro znaky a jejich korelaci s prvními dvěma osami. Zelené symboly představují jedince klasifikované jako *D. \*incarnata*, modré *D. \*hyphaematodes* a fialové čtverečky *D. \*serotina*. První číslo v popisku jedince představuje číslo lokality, číslo za podtržitkem označuje konkrétní rostlinu.

Obrázek 6 zobrazuje diagram distribuce průměrných hodnot populací v prostoru prvních dvou ordinačních os a korelaci použitých znaků s těmito osami. Z analýzy byly vyloučeny opět znaky d\_Kvet a od něj odvozené indexy, znak D a tři znaky týkající se skvrnitosti listů, ze stejných důvodů jako v předchozí analýze. Navíc byly z analýzy vyloučeny silně korelované znaky, konkrétně: M\_L1, d\_L2, s\_L2, M\_L2, d\_L1/M\_L1, zakr\_L2, b\_Lod\_f, b\_Vret\_f a b\_Okv\_t. První ordinační osa vysvětluje 39,1 % celkové variability a nejvíce s ní korelují znaky měřené na květech, dále znak šířka prvního listu a počet listů bez pochvy. Druhá ordinační osa vysvětluje 24,5 % celkové variability, nejvíce s ní korelují znaky Vys, d\_L1, Vys/d\_L1, ale i zakr\_Ost a poměr Vys/listy. Populace z lokality Kolo se separuje od všech ostatních podél první osy. Ostatní populace se umísťují podle druhé osy, netvoří však jasné vymezené shluky. Populace *D. \*serotina* jsou na první ose umístěny vedle sebe, podél druhé osy jsou však už separované. Populace považované za různé taxony ze stejné lokality (*D. \*incarnata* a *D. \*hyphaematodes*) nebylo možné separovat. Tyto dvojice populací se spolu shlukovaly podle lokality, nikoliv taxonu.



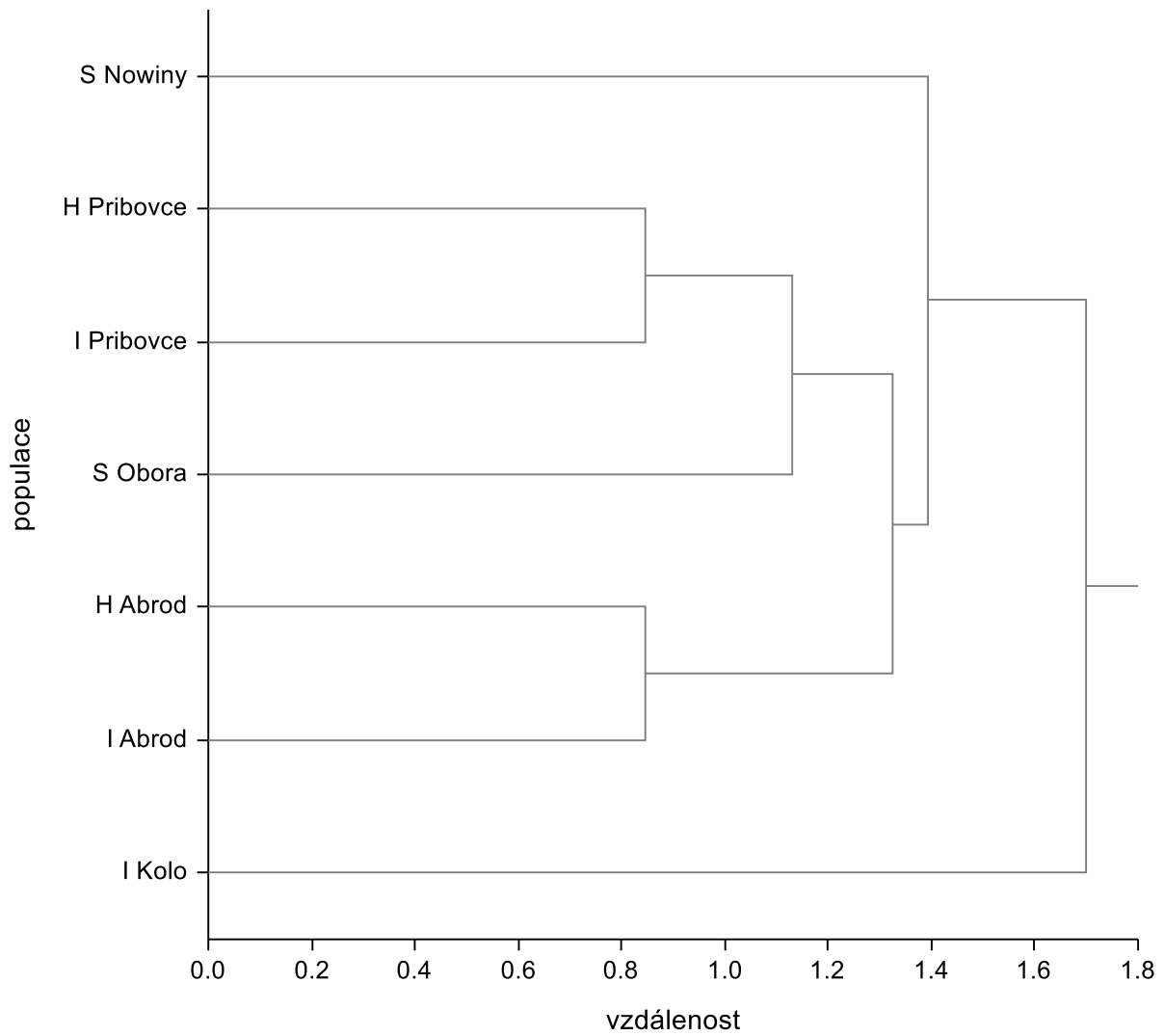
Obr. 6: Analýza hlavních komponent (PCA) zobrazující v prostoru prvních dvou os distribuci populačních průměrů všech populací a korelaci analyzovaných znaků s prvními dvěma osami.

#### 4.2.2 Fenetická analýza

Morfologická podobnost populací byla dále analyzována pomocí numerické klasifikace metodou UPGMA s využitím euklidovské vzdálenosti. Grafickým výstupem těchto analýz jsou dendrogramy. První dendrogram (obr. 7) byl sestaven za použití primárních kvantitativních i kvalitativních znaků. Z analýzy byly vyloučeny silně korelované znaky (Pearsonův koeficient  $> 0,95$ ), konkrétně b\_Okv\_f, b\_Lod\_f. Dále nebyly použity znaky týkající se skvrnitosti listů (na základě těchto znaků byli jedinci apriorně klasifikováni do taxonů). Při Euklidovské vzdálenosti 1,3 bylo možné rozlišit čtyři shluky:

1. shluk obsahuje populaci z lokality Kolo; jedná se o nejlépe separovaný shluk;
2. shluk obsahuje samostatnou populaci na lokalitě Nowiny;
3. shluk obsahuje obě populace z lokality Příbovce a populaci z lokality Obora;
4. shluk obsahuje obě populace z lokality Abrod.

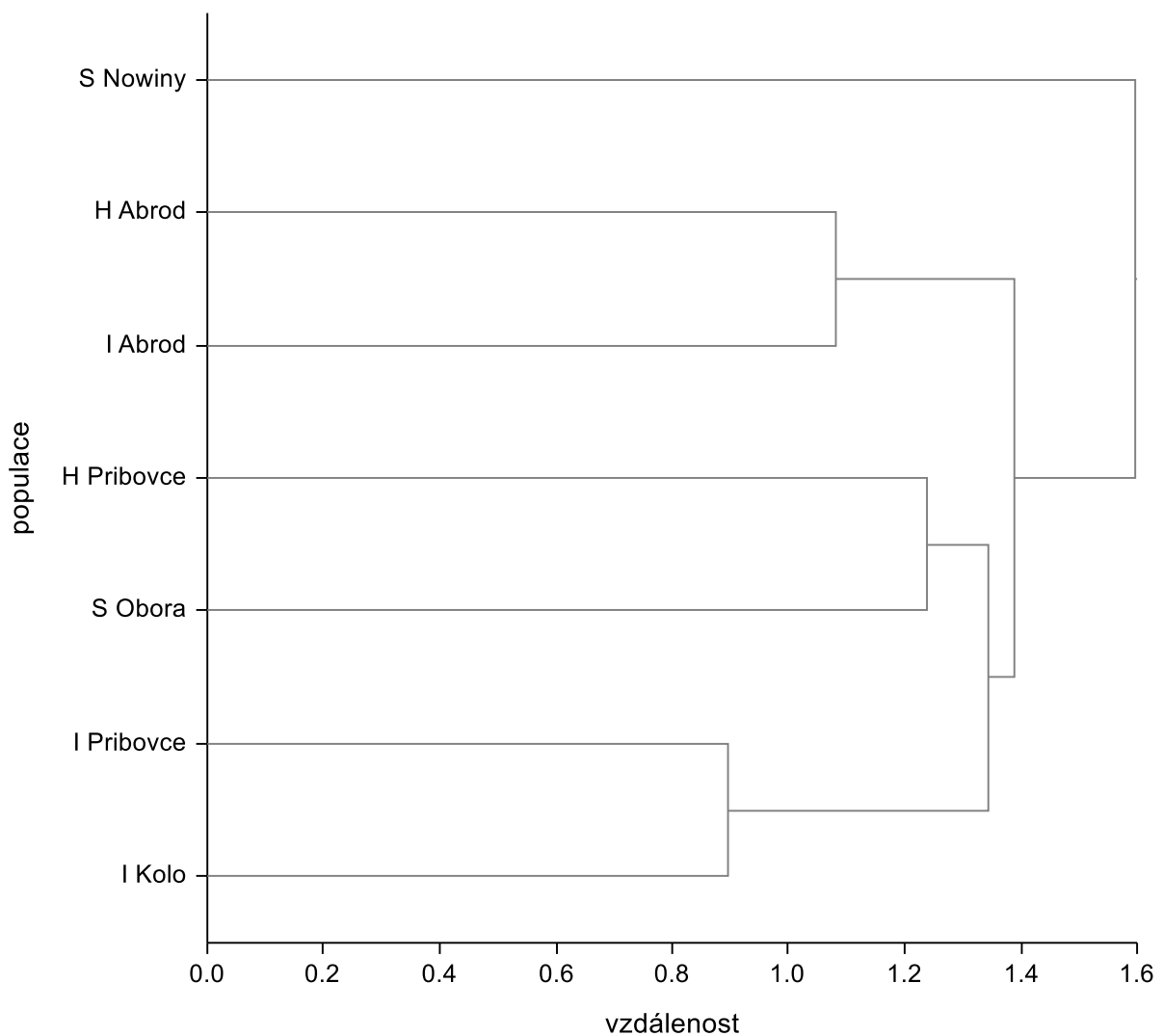
Dendrogram, vytvořený použitím všech znaků včetně indexů, s tím že byly opět vyloučeny stejné korelované znaky, byl velmi podobný dendrogramu na obr. 7. Populace byly rozděleny do obdobných shluků, pouze vzdálenosti mezi jednotlivými nody byly mírně odlišné. Tento dendrogram proto není zobrazen.



Obr. 7: Dendrogram vypočítaný metodou UPGMA s Euklidovskou vzdáleností. Pro analýzu byly použité primární kvantitativní i kvalitativní znaky.

Druhý dendrogram (obr. 8) byl sestaven za použití indexů, kvalitativních znaků a znaků vyjádřujících úhel prvních dvou listů vůči lodyze. Vyloučeny byly opět silně korelované znaky b\_Okv\_f a b\_Lod\_f, spolu se znaky tykajícími se skvrnitosti listů. Při Euklidovské vzdálenosti 1,2 bylo rozlišeno pět shluků, které se lišily od prvního dendrogramu:

1. shluk obsahuje populaci na lokalitě Nowiny;
2. shluk obsahuje obě populace z lokality Abrod;
3. shluk obsahuje populace *D. \*incarnata* z lokalit Příbovce a Kolo;
4. shluk obsahuje populaci *D. \*hyphaematodes* z lokality Příbovce;
5. shluk obsahuje populaci z lokality Obora.



Obr. 8: Dendrogram vypočítaný metodou UPGMA s Euklidovskou vzdáleností. Pro analýzu byly použity pouze indexy, primární kvalitativní znaky a znaky uhel\_L1 a uhel\_L2

### 4.2.3 Testování rozdílů mezi taxony a populacemi pomocí testu hierarchická ANOVA

Na základě výsledků PCA analýz a dendrogramů bylo považováno za vhodné statisticky testovat rozdíly na úrovni populací spíše než na úrovni taxonů, k nimž byly rostliny a populace apriorně přiřazeny. Pro srovnání vlivu taxonů a vlivů populací na celkovou variabilitu byl použit test hierarchická ANOVA. Výsledky testu pro 36 kvantitativních znaků jsou shrnuty v tab. 9.

Vliv taxonu byl signifikantní pouze u indexu “délka 2. listu / vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze“. Naopak vliv populace byl signifikantní téměř u všech znaků; výjimky s výsledkem  $p > 0,05$  jsou: vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze, úhel 2. listu, hodnota D měřena na květech, poměr 2. a 1. internodia, výška rostliny / délka 2. listu, délka 2. listu / vzdálenost nejširšího místa 2. listu. Tyto testy ukázaly, že rozdíly mezi populacemi klasifikovanými do stejného taxonu jsou větší, než rozdíly mezi těmito taxony v rámci jedné populace. Označení populací jmény taxonů, k nimž byly populace apriorně přiřazeny na základě použitého určovacího klíče, bylo pro účely práce ponecháno; již tyto výsledky však poukazují na nekoherentnost takto apriorně vymezených skupin.

Tab. 9: Výsledky testu Hierarchická ANOVA. Faktor populace byl podřízen faktoru taxon. Zvýrazněny jsou hodnoty  $p \leq 0,05$ , tedy znaky u kterých byl prokázán signifikantní vliv.

Zkratka znaku	Vliv taxonu		Vliv populace		
	F <sub>2,4</sub>	P	F <sub>4,df</sub>	P	df
Vys	0,82	0,502	3,10	<b>0,018</b>	107
d_Kvet	0,44	0,673	8,93	< <b>0,001</b>	109
Int1	1,51	0,325	4,70	<b>0,002</b>	110
Int2	1,06	0,427	4,63	<b>0,002</b>	110
prum_Lod	0,39	0,702	10,07	< <b>0,001</b>	109
listy	0,95	0,459	5,95	< <b>0,001</b>	110
d_L1	0,78	0,517	14,37	< <b>0,001</b>	106
s_L1	0,43	0,680	20,66	< <b>0,001</b>	106
M_L1	0,15	0,866	6,40	< <b>0,001</b>	107
uhel_L1	2,36	0,211	12,45	< <b>0,001</b>	105
d_L2	1,24	0,380	5,98	< <b>0,001</b>	108
s_L2	0,60	0,592	18,69	< <b>0,001</b>	104
M_L2	1,60	0,308	2,35	0,059	109
uhel_L2	5,30	0,074	1,89	0,117	106
A	0,33	0,734	6,26	< <b>0,001</b>	108
B	0,48	0,653	10,91	< <b>0,001</b>	110
C	0,56	0,612	10,60	< <b>0,001</b>	110
D	2,96	0,162	1,28	0,283	107
E	0,51	0,633	3,02	<b>0,021</b>	110
F	0,60	0,593	11,95	< <b>0,001</b>	110
Vys/d_Kvet	1,25	0,378	7,02	< <b>0,001</b>	107
Vys/listy	0,72	0,541	13,73	< <b>0,001</b>	105
Vys/prum_l	1,62	0,306	8,14	< <b>0,001</b>	108
Int2/Int1	3,24	0,146	1,75	0,144	106
Vys/Int1	0,98	0,451	10,97	< <b>0,001</b>	106
Vys/Int2	0,76	0,526	3,24	<b>0,015</b>	110
Vys/d_L1	0,73	0,538	6,09	< <b>0,001</b>	108
Vys/d_L2	0,41	0,690	0,93	0,447	105
d_L1/M_L1	2,50	0,198	4,26	<b>0,003</b>	109
d_L2/M_L2	11,63	<b>0,022</b>	1,63	0,173	107
d_L1 /s_L1	2,52	0,196	12,64	< <b>0,001</b>	109
d_L2 /s_L2	3,85	0,117	7,85	< <b>0,001</b>	108
2A/(B+C)	0,51	0,633	7,08	< <b>0,001</b>	108
A/D	2,10	0,237	3,93	<b>0,005</b>	107
F/E	0,10	0,905	6,85	< <b>0,001</b>	108
A/F	0,97	0,453	5,96	< <b>0,001</b>	110



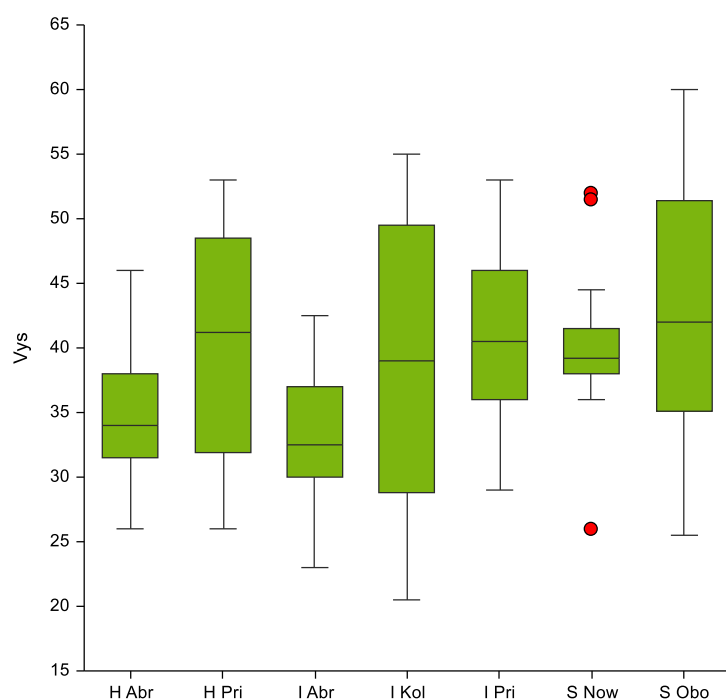
#### 4.2.4 Analýza mezipopulačních rozdílů u jednotlivých znaků

##### Výška rostliny (Vys)

Ve znaku výška rostliny byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,107} = 2,92$ ,  $P < 0,05$ ). Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že významný rozdíl je mezi populacemi S Obora, kde byla zjištěna největší výška rostlin a populací I Abrod, kde byly rostliny nejnižší (viz tab. 11). Tabulka 10 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 9.

Tab. 10: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	medián
I Kolo	20	38,93	10,42	2,33	20,50	55,00	39,00
I Abrod	15	33,63	5,69	1,47	23,00	42,50	32,50
H Abrod	15	34,63	5,05	1,30	26,00	46,00	34,00
S Obora	20	42,55	9,76	2,18	25,50	60,00	42,00
S Nowiny	15	39,40	2,23	0,58	26,00	52,00	39,25
I Pribovce	15	40,87	6,99	1,81	29,00	53,00	40,50
H Pribovce	14	40,21	8,38	2,24	26,00	53,00	41,25



Obr. 9: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „výška rostliny“. Použitá jednotka je cm.

Tab. 11: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „výška rostliny“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

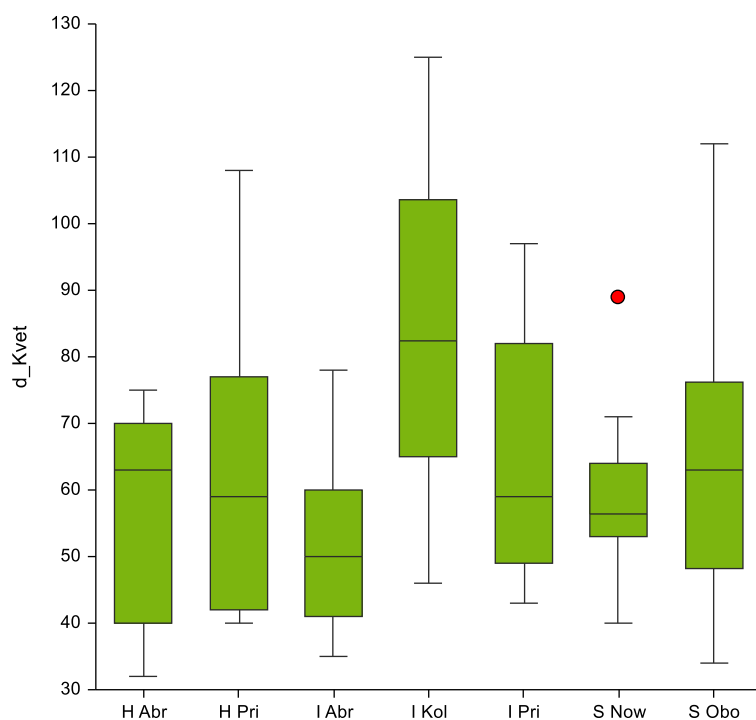
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	-	-	-
I Abr	-	0	-	+	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	+	-	0	-	-	-
S Now	-	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Délka květenství (d\_Kvet)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Tento prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 26,66$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že se významně od všech ostatních odlišuje pouze populace I Kolo s výrazně delším květenstvím (viz tab. 13). Tabulka 12 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 10.

Tab. 12: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „délka květenství“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	85,30	22,90	5,12	46,00	125,00	82,50
I Abrod	15	51,20	12,19	3,15	35,00	78,00	50,00
H Abrod	15	56,60	15,73	4,06	32,00	75,00	63,00
S Obora	20	64,20	18,78	4,20	34,00	112,00	63,00
S Nowiny	17	57,65	7,56	1,83	40,00	89,00	56,50
I Pribovce	15	65,07	17,79	4,59	43,00	97,00	59,00
H Pribovce	14	60,86	20,53	5,49	40,00	108,00	59,00



Obr. 10: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „délka květenství“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 13: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „délka květenství“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

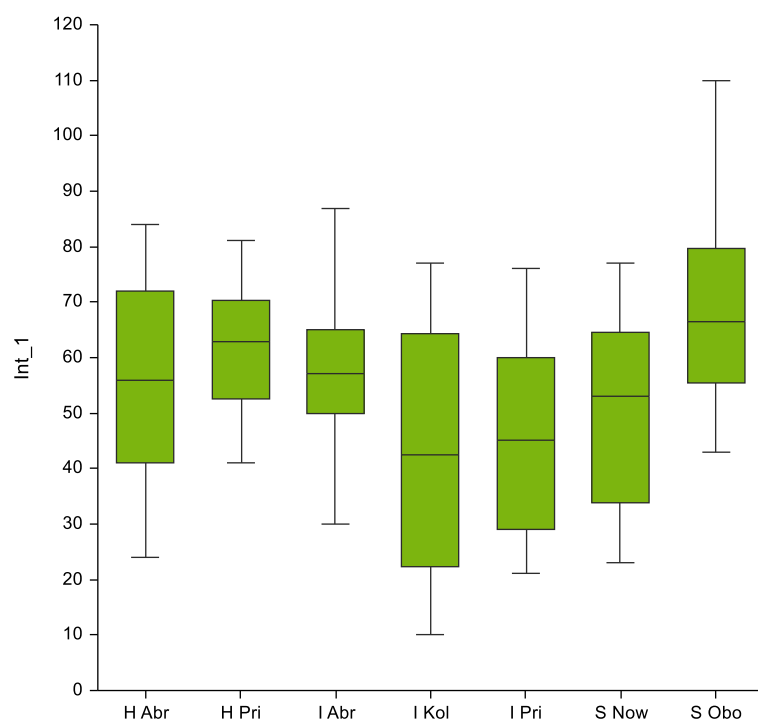
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

### První internodium (Int\_1)

Ve znaku byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 5,50$ ,  $P < 0,001$ ). Značně vyššími hodnotami tohoto znaku se odlišují populace S Obora a částečně též H Příbovce (viz tab. 15). Tabulka 14 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 11.

Tab. 14: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „první internodium“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	43,55	21,27	4,76	10,00	77,00	42,50
I Abrod	15	57,47	13,84	3,57	30,00	87,00	57,00
H Abrod	15	56,53	17,20	4,44	24,00	84,00	56,00
S Obora	20	69,40	16,74	3,74	43,00	110,00	66,50
S Nowiny	18	50,94	16,34	3,85	23,00	77,00	53,00
I Pribovce	15	45,27	16,39	4,23	21,00	76,00	45,00
H Pribovce	14	61,71	11,77	3,15	41,00	81,00	63,00



Obr. 11: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „první internodium“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 15: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „první internodium“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

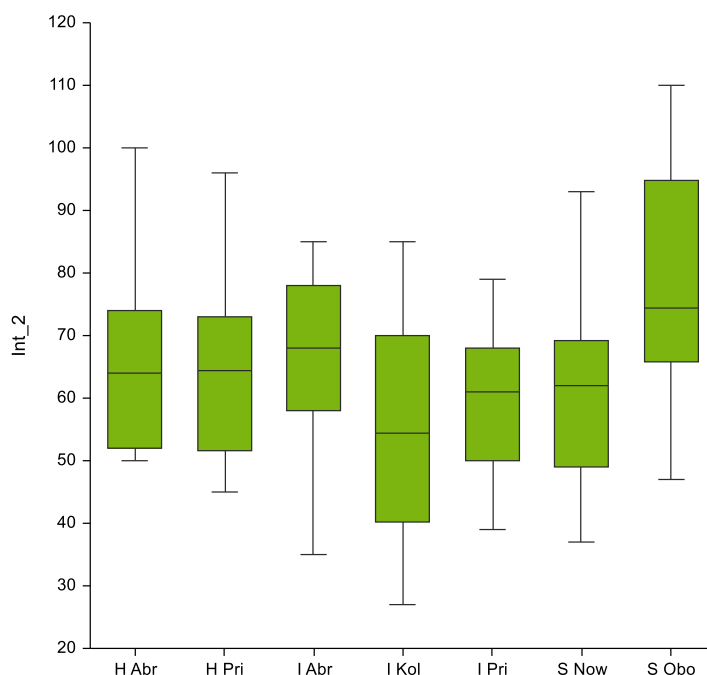
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	+	-	-	+
I Abr	-	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	+	+	-
S Now	-	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	-	-	+	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

### Druhé internodium (Int\_2)

Ve znaku byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 4,72$ ,  $P < 0,001$ ). Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že se populace S Obora odlišuje od stejných tří populací, jako v případě znaku Int\_1 (viz tab. 17). Tabulka 16 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 12.

Tab. 16: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „druhé internodium“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	54,65	17,60	3,94	27,00	85,00	54,50
I Abrod	15	66,13	13,13	3,39	35,00	85,00	68,00
H Abrod	15	66,00	14,86	3,84	50,00	100,00	64,00
S Obora	20	78,45	18,23	4,08	47,00	110,00	74,50
S Nowiny	18	60,33	13,01	3,07	37,00	93,00	62,00
I Pribovce	15	60,07	12,55	3,24	39,00	79,00	61,00
H Pribovce	14	64,64	13,88	3,71	45,00	96,00	64,50



Obr. 12: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „druhé internodium“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 17: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „druhé internodium“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

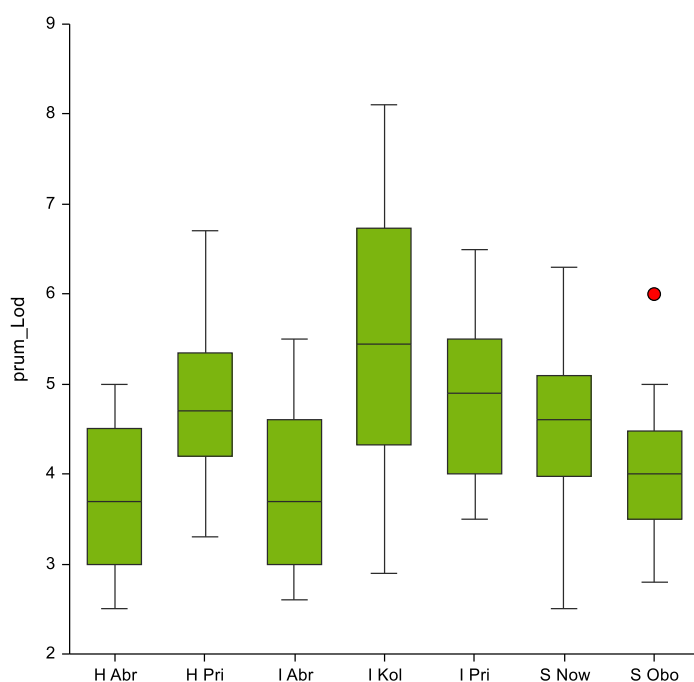
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	+	-	-	-
I Abr	-	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	+	+	-
S Now	-	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	-	-	+	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Průměr lodyhy pod květenstvím (prum\_Lod)

Ve znaku byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,109} = 8,01$ ,  $P < 0,001$ ). Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že se od populací z lokalit Abrod a Obora liší populace I Kolo, kde rostly rostliny s nejtlustšími lodyhami (viz tab. 19). Tabulka 18 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 13.

Tab. 18: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „průměr lodyhy pod květenstvím“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	5,52	1,53	0,34	2,90	8,10	5,45
I Abrod	15	3,75	0,84	0,22	2,60	5,50	3,70
H Abrod	15	3,74	0,84	0,22	2,50	5,00	3,70
S Obora	19	3,94	0,63	0,14	2,80	6,00	4,00
S Nowiny	18	4,59	0,87	0,21	2,50	6,30	4,60
I Pribovce	15	4,80	0,89	0,23	3,50	6,50	4,90
H Pribovce	14	4,80	0,87	0,23	3,30	6,70	4,70



Obr. 13: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „průměr lodyhy pod květenstvím“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 19: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „průměr lodyhy pod květenstvím“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

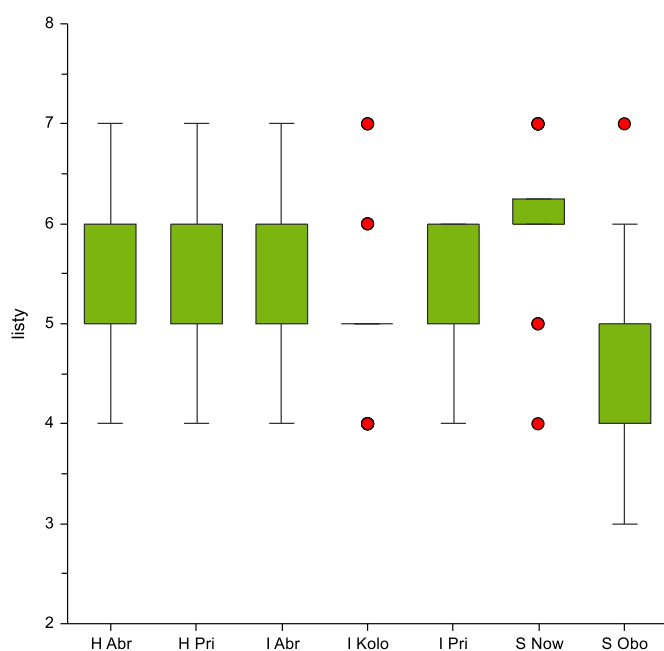
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	-	-	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	-	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

## Počet lodyžních listů (listy)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 4,74$ ,  $P < 0,001$ ). V analýzách byly pro tento znak ponechány všechny hodnoty, jelikož při třech populacích bylo odlehlých hodnot příliš mnoho a při jejich vyloučení by došlo ke ztrátě variability, kterou by bylo možné srovnávat. Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že se populace S Obora ve znaku významně odlišuje od populací H Příbovce a S Nowiny (viz tab. 21), v které byl naměřen nejvyšší průměrný počet listů. Menší počet listů mají rostliny z populace I Kolo. Tabulka 20 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Krabičkový diagram zobrazující variabilitu v počtu listů mezi populacemi je na obr. 14.

Tab. 20: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „počet lodyžních listů“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	5,10	0,85	0,19	4,00	7,00	5,00
I Abrod	15	5,53	0,92	0,24	4,00	7,00	6,00
H Abrod	15	5,27	0,70	0,18	4,00	7,00	5,00
S Obora	20	4,70	0,92	0,21	3,00	7,00	5,00
S Nowiny	18	6,00	0,77	0,18	4,00	7,00	6,00
I Příbovce	15	5,53	0,74	0,19	4,00	6,00	6,00
H Příbovce	14	5,57	0,76	0,20	4,00	7,00	6,00



Obr. 14: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „počet lodyžních listů“.



Tab. 21: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „počet lodyžních listů“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

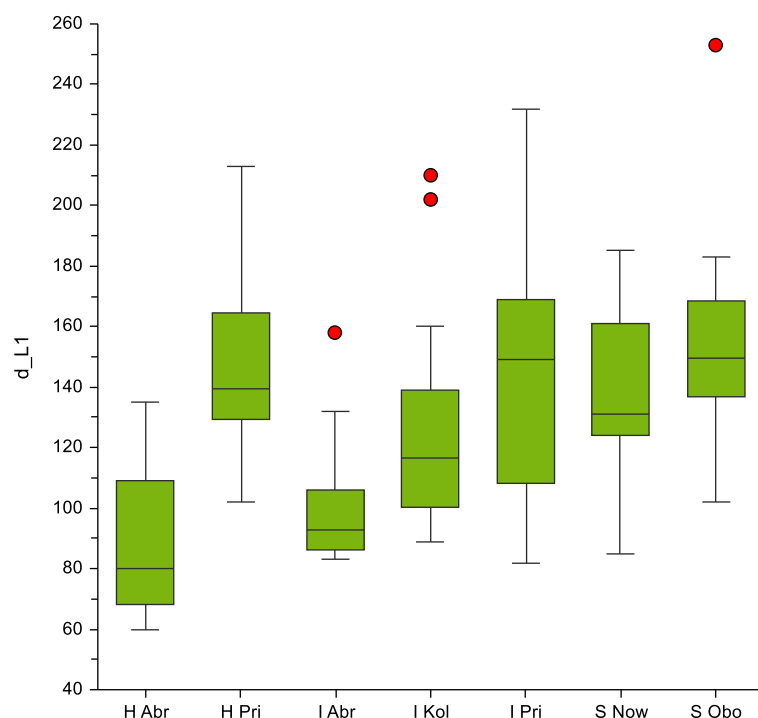
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	+	-	-
I Abr	-	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	+	-	+
S Now	+	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	+	-	-	0

### Délka 1. listu (d\_L1)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 50,04$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání (výsledky viz tab. 23) bylo zjištěno, že rostliny s kratšími spodními listy rostly na lokalitě Abrod a odlišovaly se tím od většiny ostatních populací, naopak průměrně nejdelší spodní list měly rostliny z populací S Obora a H Příbovce. Tabulka 22 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabíčkovými diagramy na obrázku 15.

Tab. 22: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „Délka 1. listu“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	18	115,00	20,32	4,79	89,00	210,00	116,50
I Abrod	14	97,29	14,03	3,75	83,00	158,00	93,00
H Abrod	15	88,73	25,52	6,59	60,00	135,00	80,00
S Obora	19	147,63	22,16	5,08	102,00	253,00	149,50
S Nowiny	18	137,61	26,88	6,34	85,00	185,00	131,00
I Příbovce	15	141,40	40,74	10,52	82,00	232,00	149,00
H Příbovce	14	147,21	28,90	7,72	102,00	213,00	139,50



Obr. 15: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „délka 1. listu“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 23: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „délka 1. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

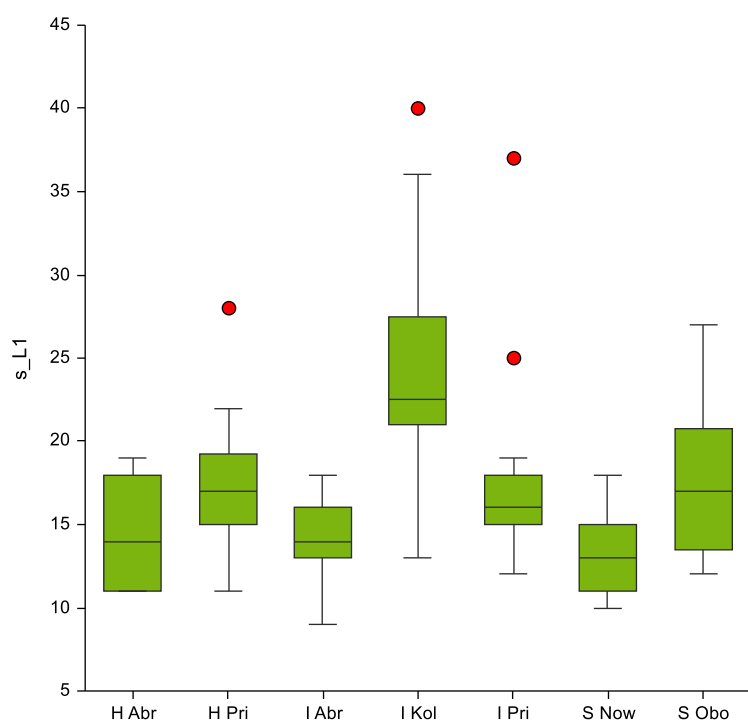
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	+	-	-	+
I Abr	-	0	-	+	+	+	+
H Abr	-	-	0	+	+	+	+
S Obo	+	+	+	0	-	-	-
S Now	-	+	+	-	0	-	-
I Pri	-	+	+	-	-	0	-
H Pri	+	+	+	-	-	-	0

### Šířka 1. listu ( $s_{L1}$ )

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 47,08$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že s výrazně širším spodním listem se odlišují od všech ostatních rostliny z populace I Kolo a také byl prokázán signifikantní rozdíl mezi populacemi *D. \*serotina* (viz tab. 25). Tabulka 24 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 16.

Tab. 24: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „šířka 1. listu“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	23,21	5,37	1,23	13,00	40,00	22,50
I Abrod	15	13,93	2,49	0,64	9,00	18,00	14,00
H Abrod	15	14,60	2,92	0,75	11,00	19,00	14,00
S Obora	20	17,30	4,00	0,89	12,00	27,00	17,00
S Nowiny	18	13,28	2,61	0,61	10,00	18,00	13,00
I Pribovce	13	15,92	1,93	0,54	12,00	37,00	16,00
H Pribovce	13	16,62	2,75	0,76	11,00	28,00	17,00



Obr. 16: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „šířka 1. listu“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 25: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „šířka 1. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

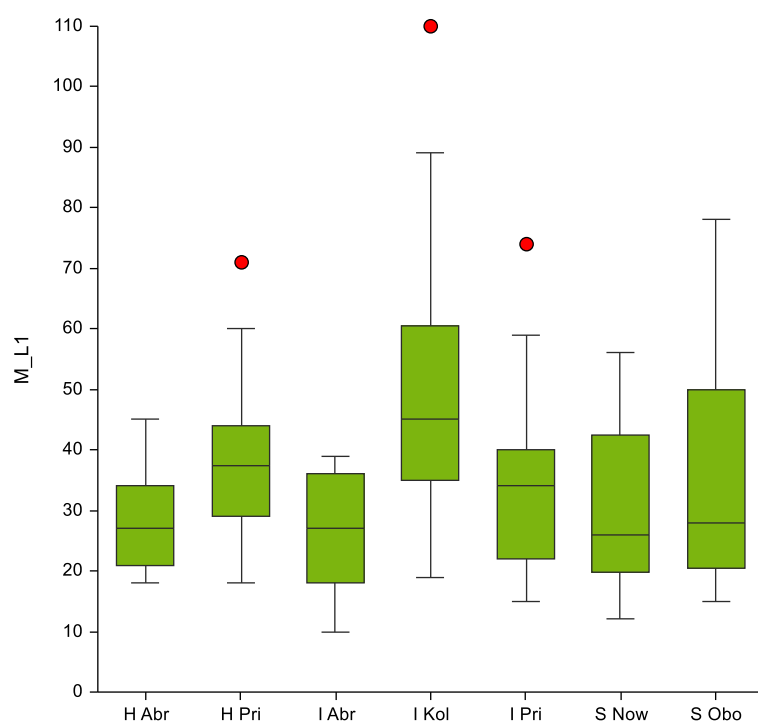
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	+	-	-
S Now	+	-	-	+	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

## Vzdálenost nejširšího místa 1. listu od báze listu (M\_L1)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 20,22$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,01$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že se populace I Kolo v tomto znaku odlišuje od všech ostatních, kromě populací S Obora a H Příbovce (viz tab. 27). Tabulka 26 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 17.

Tab. 26: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „vzdálenost nejširšího místa 1. listu od báze listu“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	47,11	17,67	4,05	19,00	110,00	45,00
I Abrod	15	26,13	9,86	2,54	10,00	39,00	27,00
H Abrod	15	28,13	8,28	2,14	18,00	45,00	27,00
S Obora	20	36,55	19,15	4,28	15,00	78,00	28,00
S Nowiny	18	29,17	12,56	2,96	12,00	56,00	26,00
I Příbovce	14	32,00	11,88	3,17	15,00	74,00	34,00
H Příbovce	13	36,31	11,26	3,12	18,00	71,00	37,50



Obr. 17: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „vzdálenost nejširšího místa 1. listu od báze listu“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 27: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „vzdálenost nejširšího místa 1. listu od báze listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

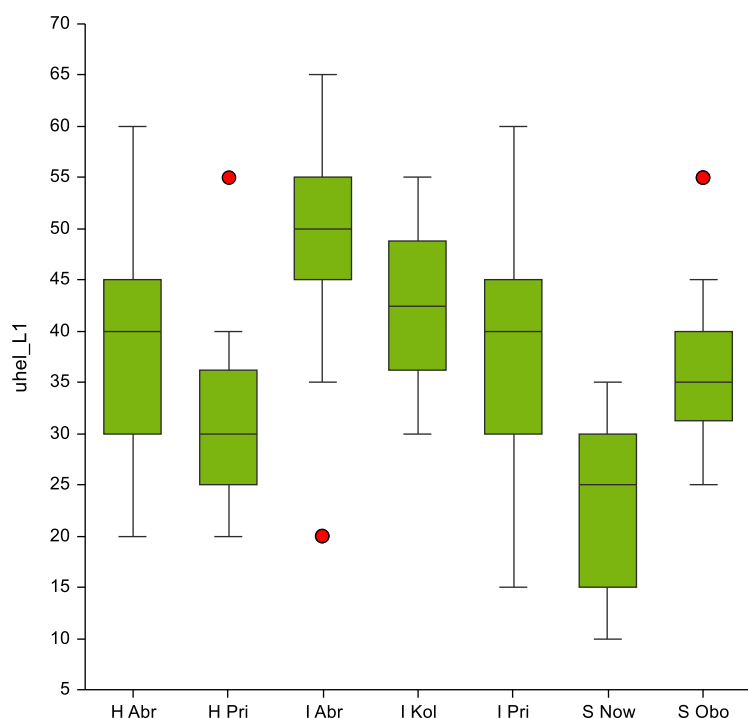
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	-	+	+	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Úhel 1. listu vůči lodyze (uhel\_L1)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,105} = 18,07, P < 0,001$ ). Bylo zjištěno, že variabilita ve znaku napříč populacemi je poměrně velká. Od pěti ostatních se odlišovala populace S Nowiny s nejnižšími hodnotami a od všech ostatních populace I Abrod s nejvyššími hodnotami ve znaku. (viz tab. 29). Tabulka 28 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 18.

Tab. 28: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „úhel 1. listu vůči lodyze“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je stupeň.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	42,25	6,97	1,56	30,00	55,00	42,50
I Abrod	13	51,92	8,55	2,37	20,00	65,00	50,00
H Abrod	15	39,67	11,41	2,95	20,00	60,00	40,00
S Obora	18	35,83	5,49	1,29	25,00	55,00	35,00
S Nowiny	18	22,78	7,71	1,82	10,00	35,00	25,00
I Pribovce	15	37,67	11,63	3,00	15,00	60,00	40,00
H Pribovce	13	30,77	6,07	1,68	20,00	55,00	30,00



Obr. 18: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „úhel 1. listu vůči lodyze“. Použitá jednotka je stupeň.

Tab. 29: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „úhel 1. listu vůči lodyze“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	-	+	-	+
I Abr	+	0	+	+	+	+	+
H Abr	-	+	0	-	+	-	-
S Obo	-	+	-	0	+	-	-
S Now	+	+	+	+	0	+	-
I Pri	-	+	-	-	+	0	-
H Pri	+	+	-	-	-	-	0

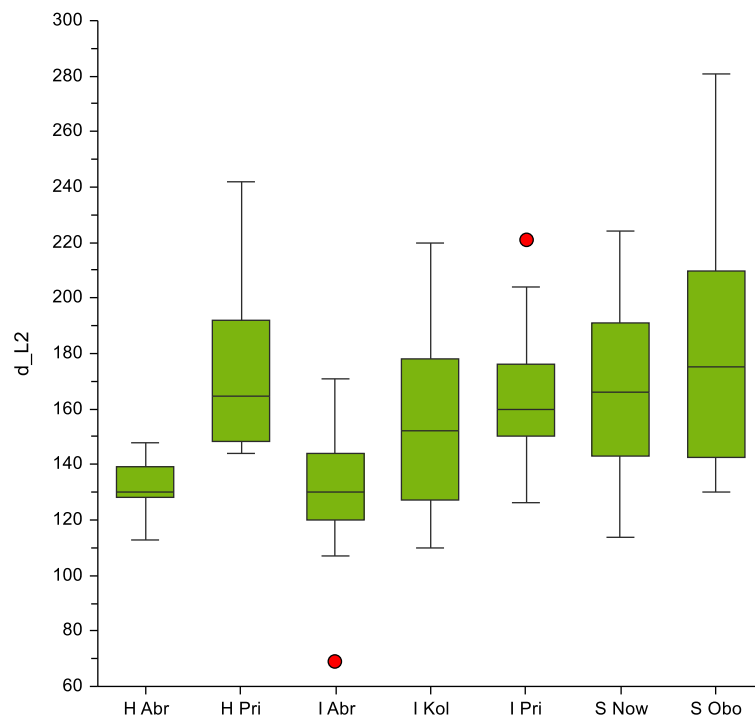
### Délka 2. listu (d\_L2)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 35,33$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Testem mnohonásobného porovnání (výsledky viz tab. 31) bylo zjištěno, že nejmenší hodnoty ve znaku mají rostliny z lokality Abrod, nejvyšší hodnoty byly naměřeny v populacích H Příbovce, S Obora a S Nowiny.

Tabulka 30 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 19.

Tab. 30: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „délka 2. listu“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	156,95	33,39	7,47	110,00	220,00	152,00
I Abrod	14	133,64	17,09	4,57	69,00	171,00	130,00
H Abrod	15	131,87	9,62	2,48	113,00	148,00	130,00
S Obora	20	178,60	40,00	8,94	130,00	281,00	175,00
S Nowiny	18	167,61	30,61	7,22	114,00	224,00	166,00
I Pribovce	14	161,00	20,58	5,50	126,00	221,00	160,00
H Pribovce	14	172,93	28,63	7,65	144,00	242,00	164,50



Obr. 19: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „délka 2. listu“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 31: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „délka 2. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	-	-	-
I Abr	-	0	-	+	+	-	+
H Abr	-	-	0	+	+	-	+
S Obo	-	+	+	0	-	-	-
S Now	-	+	+	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	+	+	-	-	-	0

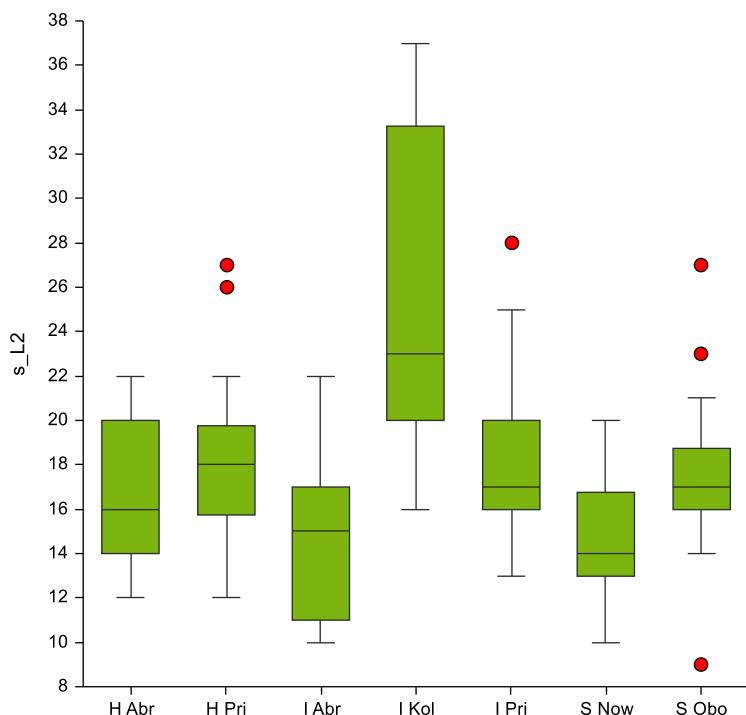
### Šířka 2. listu (s\_L2)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 43,08$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání (výsledky viz tab. 33) bylo zjištěno, že populace I Kolo se ve znaku velmi výrazně odlišuje od všech ostatních populací.. Tabulka 32 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 20.

Tab. 32: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „šířka 2. listu“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	25,45	6,82	1,53	16,00	37,00	23,00
I Abrod	15	14,47	3,72	0,96	10,00	22,00	15,00
H Abrod	15	16,80	3,38	0,87	12,00	22,00	16,00
S Obora	17	16,94	1,92	0,47	9,00	27,00	17,00
S Nowiny	18	14,89	2,85	0,67	10,00	20,00	14,00
I Pribovce	14	17,57	2,98	0,80	13,00	28,00	17,00
H Pribovce	12	17,08	2,68	0,77	12,00	27,00	18,00





Obr. 20: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „šířka 2. listu“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 33: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „šířka 2. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

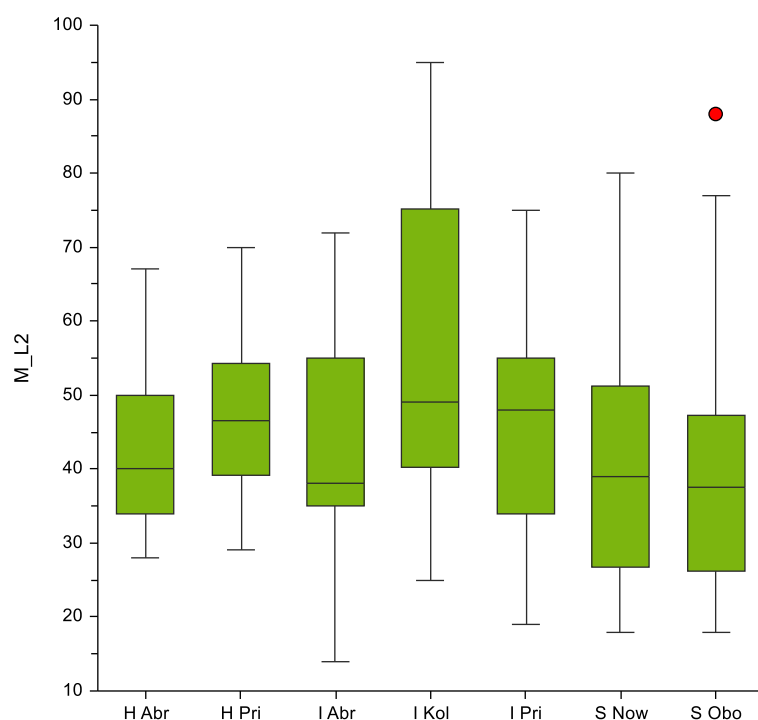
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

### Vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze (M\_L2)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,109} = 2,82, P < 0,05$ ). V populaci I Kolo byly naměřeny nejvyšší hodnoty znaku, testem mnohonásobného porovnání byl však potvrzen pouze rozdíl mezi populacemi I Kolo a S Obora (viz tab. 35). Tabulka 34 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 21.

Tab. 34: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze listu“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je mm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	56,50	21,45	4,80	25,00	95,00	49,00
I Abrod	15	41,67	15,10	3,90	14,00	72,00	38,00
H Abrod	15	43,07	10,50	2,71	28,00	67,00	40,00
S Obora	19	37,68	15,31	3,51	18,00	88,00	37,50
S Nowiny	18	41,06	17,18	4,05	18,00	80,00	39,00
I Pribovce	15	45,47	15,05	3,89	19,00	75,00	48,00
H Pribovce	14	47,43	10,76	2,88	29,00	70,00	46,50



Obr. 21: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze listu“. Použitá jednotka je mm.

Tab. 35: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

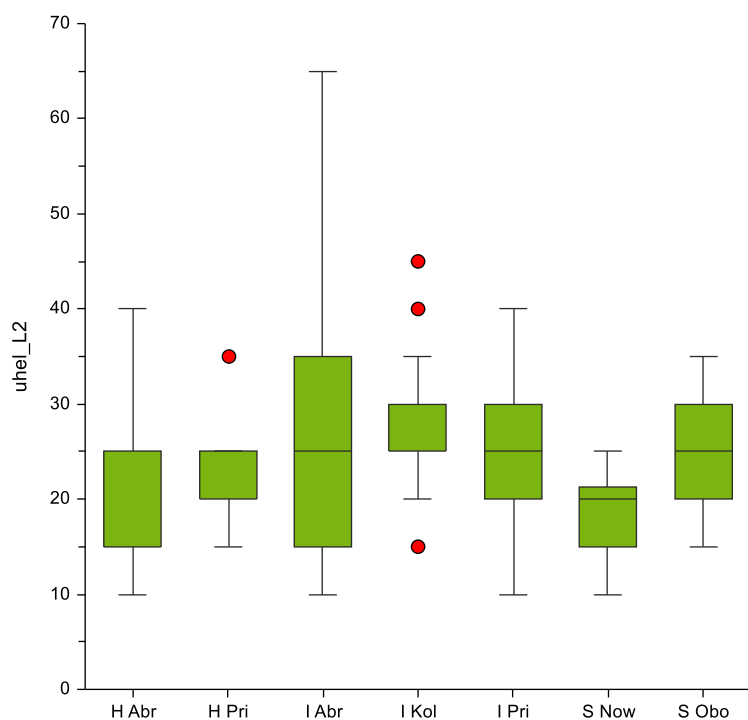
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	+	-	-	-
I Abr	-	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	-	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

## Úhel 2. listu vůči lodyze (uhel\_L2)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 28,46$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Testem mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že signifikantně se od některých populací ve znaku odlišuje pouze populace I Abrod a populace S Nowiny (viz tab. 37). Patrná je velká variabilita ve znaku u populace I Abrod. Tabulka 36 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 22.

Tab. 36: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „úhel 2. listu vůči lodyze“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je stupeň.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	17	27,06	3,56	0,86	15,00	45,00	25,00
I Abrod	15	30,00	17,22	4,45	10,00	65,00	25,00
H Abrod	15	18,33	7,94	2,05	10,00	40,00	15,00
S Obora	20	24,50	6,05	1,35	15,00	35,00	25,00
S Nowiny	18	18,33	5,14	1,21	10,00	25,00	20,00
I Pribovce	15	26,00	8,06	2,08	10,00	40,00	25,00
H Pribovce	13	20,77	3,44	0,96	15,00	35,00	20,00



Obr. 22: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „úhel 2. listu vůči lodyze“. Použitá jednotka je stupeň.

Tab. 37: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „úhel 2. listu vůči lodyze“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

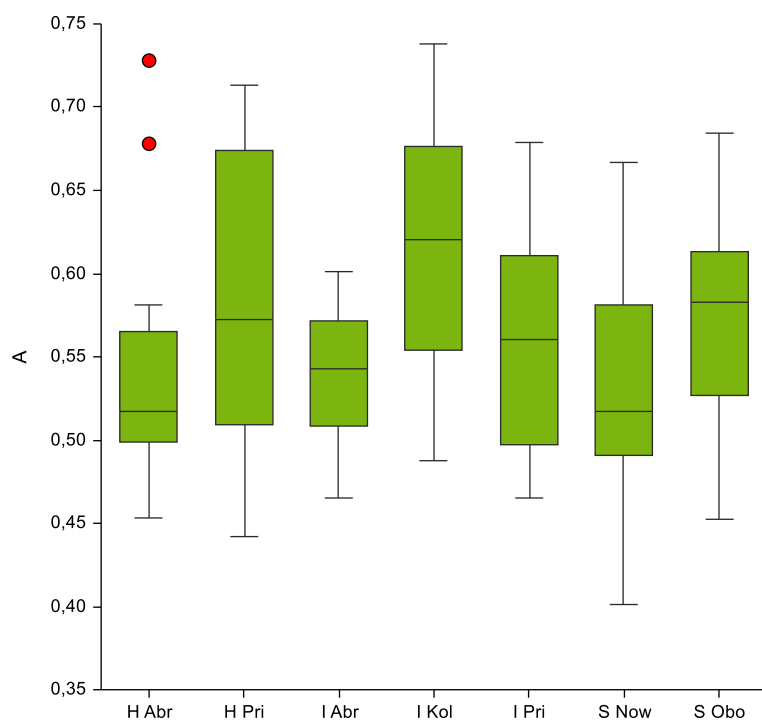
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	+	-	-
I Abr	-	0	+	-	+	-	-
H Abr	-	+	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	-	-	-
S Now	+	+	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Délka pysku (A)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,108} = 4,87, P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že s poněkud vyššími hodnotami se odlišuje pouze populace I Kolo, konkrétně od populací S Nowiny, I Abrod a H Abrod (viz tab. 39). Tabulka 38 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 23.

Tab. 38: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „délka pysku“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,62	0,07	0,02	0,49	0,74	0,62
I Abrod	15	0,54	0,04	0,01	0,47	0,60	0,54
H Abrod	13	0,52	0,04	0,01	0,45	0,73	0,52
S Obora	20	0,58	0,06	0,01	0,45	0,68	0,58
S Nowiny	18	0,53	0,07	0,02	0,40	0,67	0,52
I Pribovce	15	0,56	0,07	0,02	0,47	0,68	0,56
H Pribovce	14	0,58	0,08	0,02	0,44	0,71	0,57



Obr. 23: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „délka pysku“. Použitá jednotka je cm.

Tab. 39: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „délka pysku“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

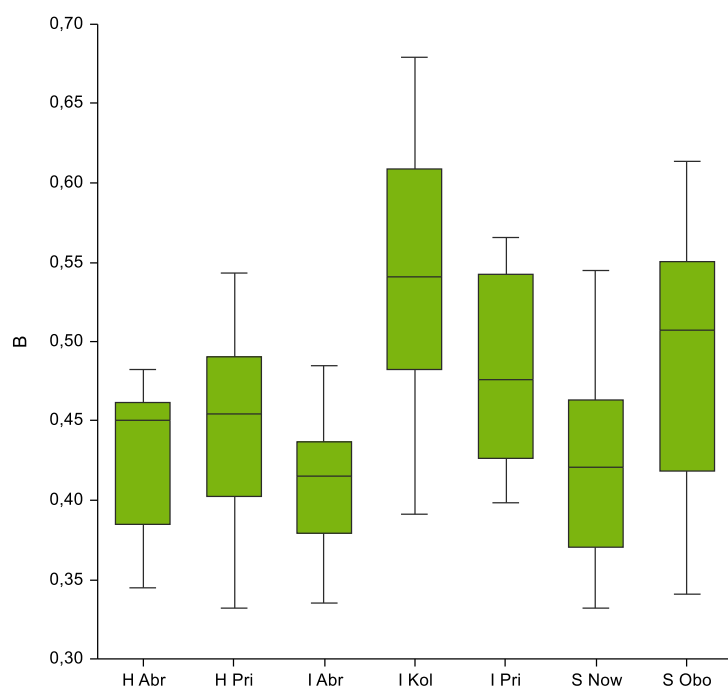
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	-	+	-	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Délka postranního laloku pysku od báze pysku (B)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 9,01, P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že s poněkud vyššími hodnotami ve znaku se od ostatních odlišují populace I Kolo a S Obora (viz tab. 41). Tabulka 40 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 24.

Tab. 40: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „délka postranního laloku pysku od báze pysku“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,54	0,08	0,02	0,39	0,68	0,54
I Abrod	15	0,41	0,04	0,01	0,34	0,49	0,42
H Abrod	15	0,43	0,05	0,01	0,35	0,48	0,45
S Obora	20	0,49	0,08	0,02	0,34	0,61	0,51
S Nowiny	18	0,42	0,06	0,01	0,33	0,55	0,42
I Pribovce	15	0,48	0,06	0,01	0,40	0,57	0,48
H Pribovce	14	0,45	0,06	0,01	0,33	0,54	0,45



Obr. 24: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „délka postranního laloku pysku od báze pysku“. Použitá jednotka je cm.

Tab. 41: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „délka postranního laloku pysku od báze pysku“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

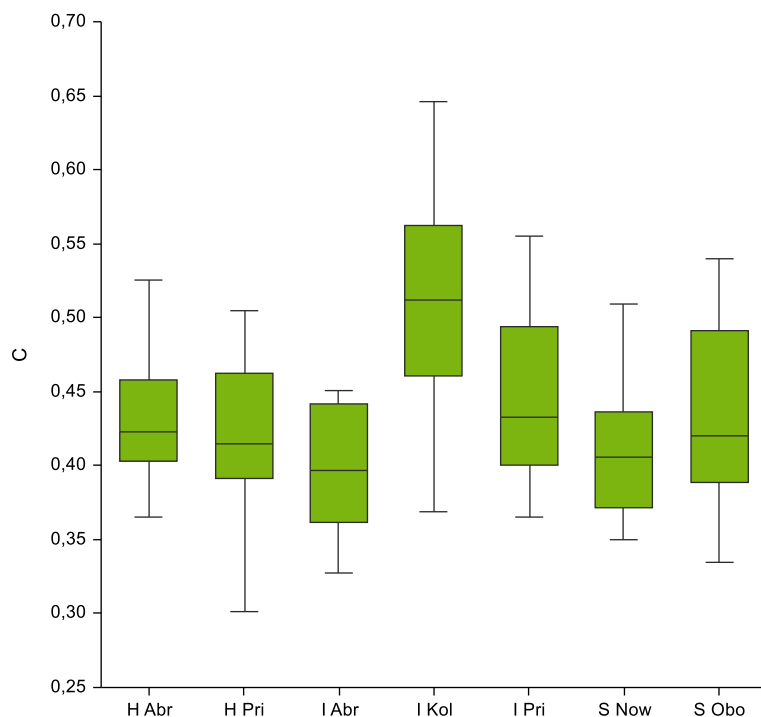
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	-	+	-	+
I Abr	+	0	-	+	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	+	-	0	+	-	-
S Now	+	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

### Vzdálenost báze postranního úkrojku od báze pysku (C)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 9,03, P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání bylo zjištěno, že vyššími hodnotami se od všech ostatních odlišuje pouze populace I Kolo (viz tab. 43). Tabulka 42 zobrazuje popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 25.

Tab. 42: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „vzdálenost báze postranního úkrojku od báze pysku“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,51	0,07	0,02	0,37	0,65	0,51
I Abrod	15	0,40	0,04	0,01	0,33	0,45	0,40
H Abrod	15	0,43	0,04	0,01	0,37	0,53	0,42
S Obora	20	0,43	0,06	0,01	0,34	0,54	0,42
S Nowiny	18	0,41	0,05	0,01	0,35	0,51	0,41
I Pribovce	15	0,45	0,06	0,01	0,37	0,56	0,43
H Pribovce	14	0,42	0,05	0,01	0,30	0,51	0,42



Obr. 25: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „vzdálenost báze postranního úkrojku od báze pysku“. Použitá jednotka je cm.

Tab. 43: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „vzdálenost báze postranního úkroju od báze pysku“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

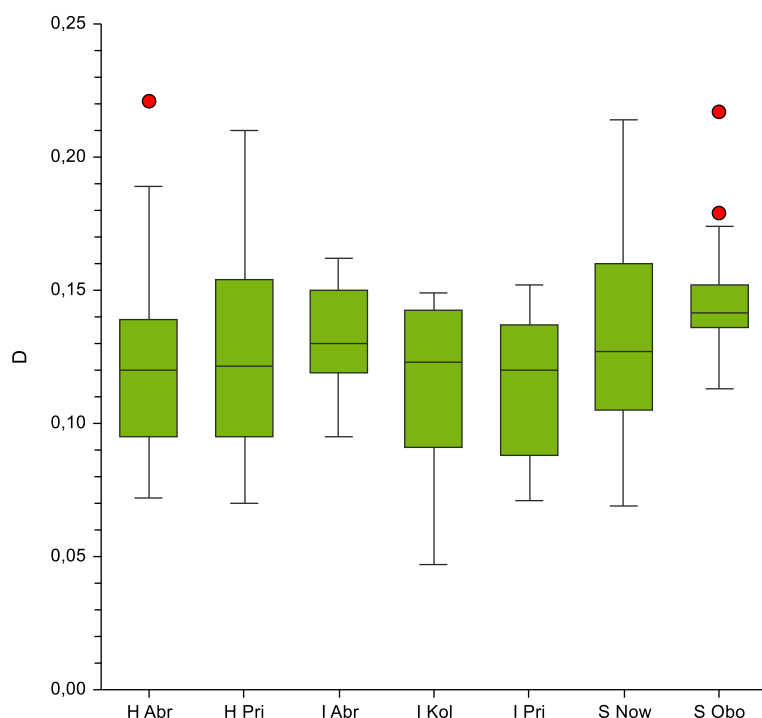
### Délka středního úkroju pysku (D)

Ve znaku nebyl metodou jednocestné ANOVY zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi, ale hodnota P se velmi blížila hraniční hodnotě 0,05 pro zamítnutí hypotézy ( $F_{6,107} = 2,12, P = 0,057$ ). O něco vyšší průměrné hodnoty byly naměřeny na rostlinách z populace S Obora, jak je možno vidět na krabičkových diagramech na obrázku 26. Tabulka 44 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability.

Tab. 44: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „délka středního úkroju pysku“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,11	0,03	0,01	0,05	0,15	0,12
I Abrod	15	0,13	0,02	0,00	0,10	0,16	0,13
H Abrod	14	0,12	0,04	0,01	0,07	0,22	0,12
S Obora	18	0,14	0,01	0,00	0,11	0,22	0,14
S Nowiny	18	0,13	0,04	0,01	0,07	0,21	0,13
I Pribovce	15	0,11	0,03	0,01	0,07	0,15	0,12
H Pribovce	14	0,13	0,04	0,01	0,07	0,21	0,12





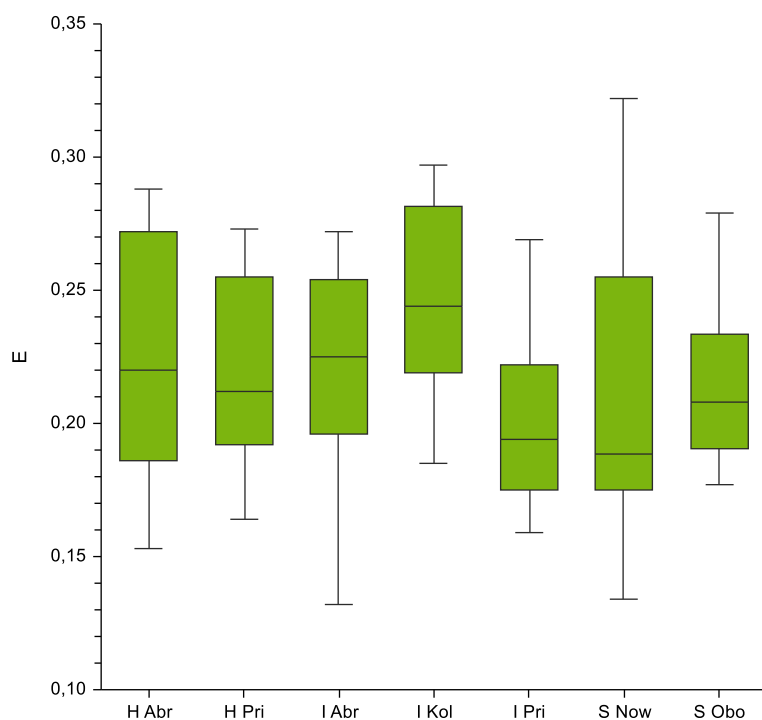
Obr. 26: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „délka středního úkrojku pysku“. Použitá jednotka je cm.

### Šířka středního úkrojku pysku (E)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 2,54, P < 0,05$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal, že populace I Kolo se vyšší hodnotou tohoto znaku signifikantně liší pouze od populací S Nowiny a I Příbovce (viz tab. 46). Tabulka 45 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 27.

Tab. 45: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „šířka středního úkrojku pysku“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,25	0,04	0,01	0,19	0,30	0,24
I Abrod	15	0,22	0,04	0,01	0,13	0,27	0,23
H Abrod	15	0,22	0,04	0,01	0,15	0,29	0,22
S Obora	20	0,21	0,03	0,01	0,18	0,28	0,21
S Nowiny	18	0,21	0,05	0,01	0,13	0,32	0,19
I Příbovce	15	0,20	0,03	0,01	0,16	0,27	0,19
H Příbovce	14	0,22	0,03	0,01	0,16	0,27	0,21



Obr. 27: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „šírka středního úkrojku pysku“. Použitá jednotka je cm.

Tab. 46: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „šírka středního úkrojku pysku“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

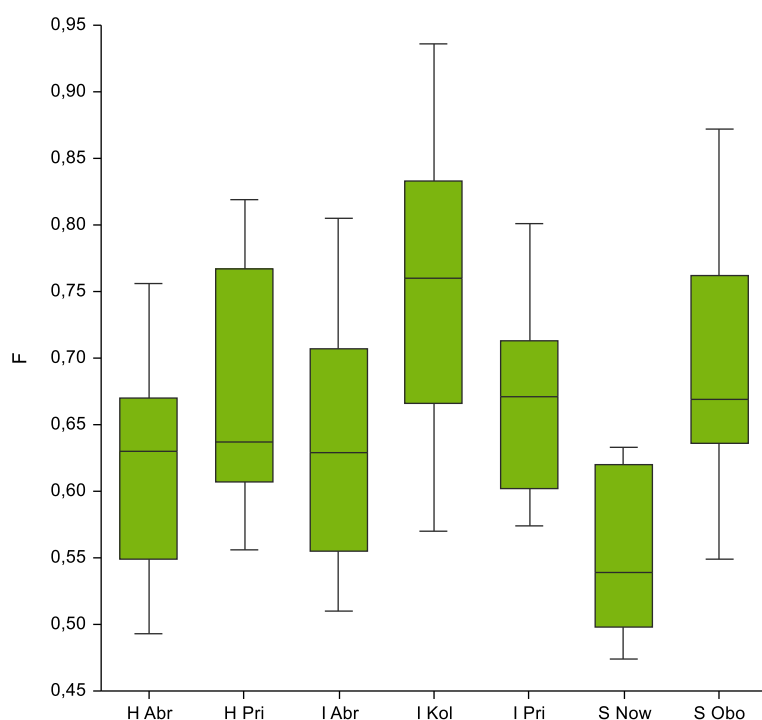
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	+	+	-
I Abr	-	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Šírka pysku (F)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 10,34, P < 0,001$ ). Na základě testu mnohonásobného porovnání byla zjištěna častější odlišnost populací S Nowiny a I Kolo od některých ostatních populací (viz tab. 48). Tabulka 47 zobrazuje základní statistické parametry pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 28.

Tab. 47: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „šířka pysku“ ve studovaných populacích. Použitá jednotka je cm.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,76	0,10	0,02	0,57	0,94	0,76
I Abrod	15	0,63	0,08	0,02	0,51	0,81	0,63
H Abrod	15	0,62	0,08	0,02	0,49	0,76	0,63
S Obora	20	0,69	0,10	0,02	0,55	0,87	0,67
S Nowiny	18	0,56	0,06	0,01	0,47	0,63	0,54
I Pribovce	15	0,67	0,07	0,02	0,57	0,80	0,67
H Pribovce	14	0,67	0,09	0,02	0,56	0,82	0,64



Obr. 28: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „šířka pysku“. Použitá jednotka je cm.

Tab. 48: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „šířka pysku“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

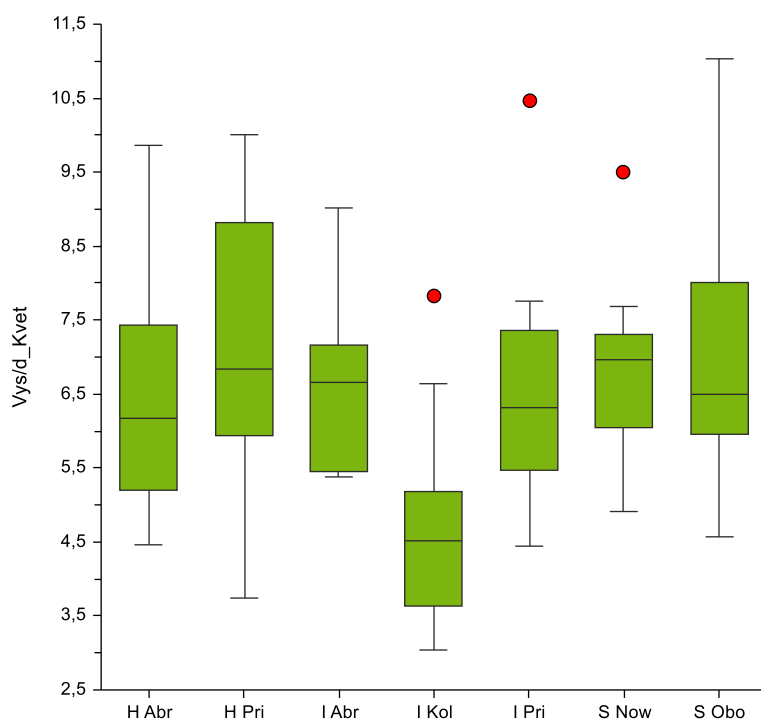
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	-	+	-	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	+	-	-
S Now	+	-	-	+	0	+	+
I Pri	-	-	-	-	+	0	-
H Pri	-	-	-	-	+	-	0

### Výška rostliny / délka květenství (Vys/d\_Kvet)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 34,36$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal, že od všech ostatních se liší populace I Kolo s rostlinami s výrazně dlouhým květenstvím (viz tab. 50). U ostatních populací se hodnota indexu příliš neliší. Tabulka 49 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 29.

Tab. 49: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny / délka květenství“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	4,53	1,02	0,23	3,04	7,83	4,52
I Abrod	15	6,74	1,14	0,29	5,38	9,02	6,67
H Abrod	15	6,49	1,69	0,44	4,47	9,86	6,17
S Obora	20	6,87	1,53	0,34	4,57	11,03	6,49
S Nowiny	17	6,68	0,77	0,19	4,91	9,50	6,96
I Pribovce	14	6,25	0,91	0,24	4,45	10,47	6,32
H Pribovce	14	7,04	1,84	0,49	3,75	10,00	6,83



Obr. 29: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „výška rostliny / délka květenství“.

Tab. 50: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „výška rostliny / délka květenství“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

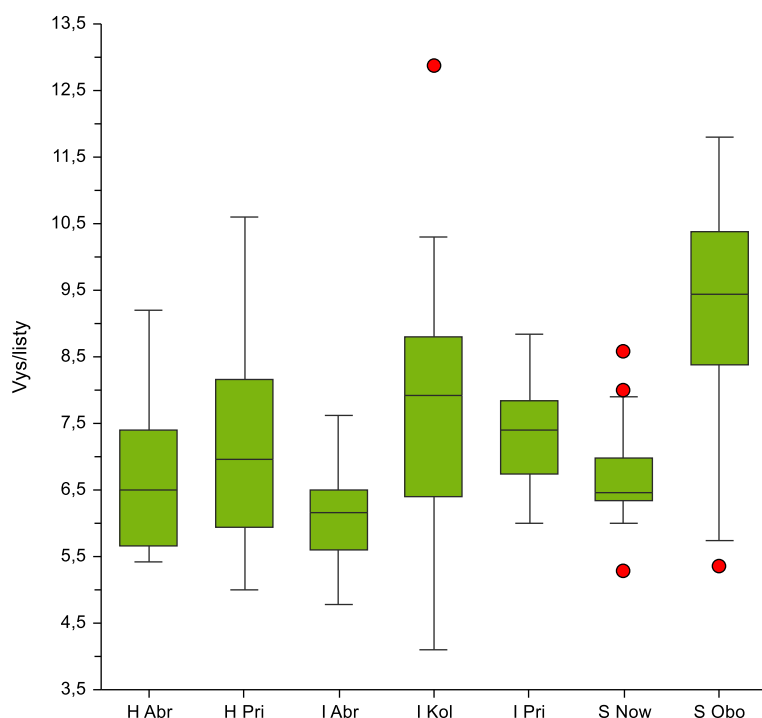
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	+	-	-	-	-	-	0

### Výška rostliny / počet listů na lodyze (Vys/listy)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,105} = 12,45, P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal výraznou odlišnost populace S Obora od všech ostatních populací. Vysoká hodnota indexu v této populaci souvisí s nízkým počtem listů bez pochev. S nízkým indexem se od ostatních populací mírně odlišuje populace I Abrod, kterou tvořili jedinci nižšího věku, ale s relativně vysokým počtem listů (viz tab. 52). Tabulka 51 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 30.

Tab. 51: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny / počet listů na lodyze“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	7,43	1,64	0,38	4,10	12,88	7,93
I Abrod	15	6,12	0,72	0,19	4,79	7,63	6,17
H Abrod	15	6,64	1,10	0,28	5,43	9,20	6,50
S Obora	19	9,35	1,45	0,33	5,36	11,80	9,44
S Nowiny	15	6,59	0,49	0,13	5,29	8,58	6,46
I Pribovce	15	7,40	0,82	0,21	6,00	8,83	7,40
H Pribovce	14	7,31	1,72	0,46	5,00	10,60	6,96



Obr. 30: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „výška rostliny / počet listů na lodyze“.

Tab. 52: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „výška rostliny / počet listů na lodyze“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

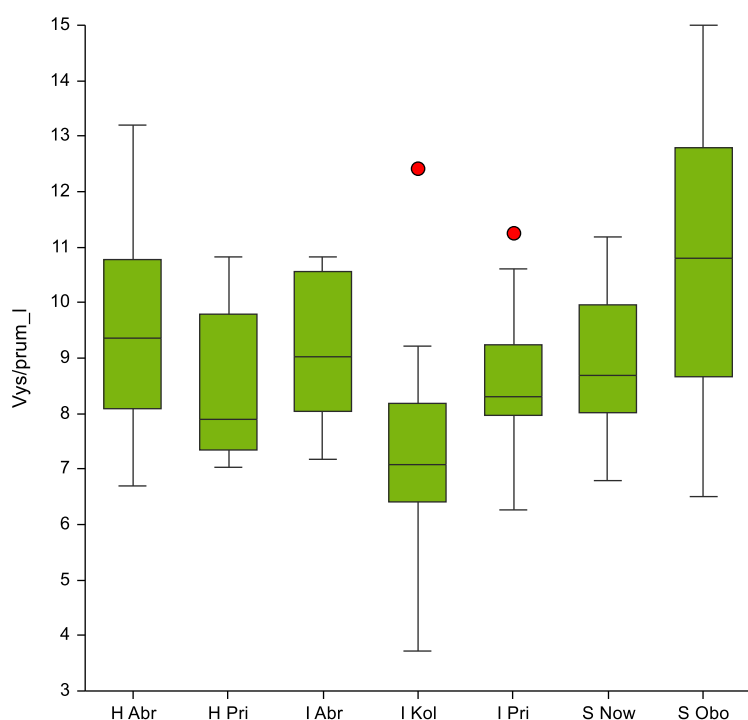
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	+	-	-	-
I Abr	+	0	-	+	-	-	-
H Abr	-	-	0	+	-	-	-
S Obo	+	+	+	0	+	+	+
S Now	-	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	-	-	+	-	0	-
H Pri	-	-	-	+	-	-	0

### Výška rostliny/ průměr lodyhy pod květenstvím (Vys/prum\_Lod)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,108} = 9,81, P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal výraznou odlišnost populace I Kolo s nízkou hodnotou a S Obora s naopak vysokou hodnotou indexu. Rozdíly jsou dány výrazně tlustšími lodyhami rostlin na lokalitě Kolo. Naopak jedinci na lokalitě Obora se vyznačovali vysokou ale v průměru spíše tenkou lodyhou (viz tab. 54). Tabulka 53 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 31.

Tab. 53: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny / průměr lodyhy pod květenstvím“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	6,99	1,28	0,29	3,73	12,41	7,08
I Abrod	15	9,14	1,24	3,57	7,19	10,83	9,02
H Abrod	15	9,55	1,77	0,46	6,70	13,20	9,35
S Obora	20	10,70	2,41	0,54	6,50	15,00	10,79
S Nowiny	18	8,88	1,24	0,29	6,79	11,18	8,68
I Pribovce	14	8,42	1,01	0,27	6,27	11,25	8,30
H Pribovce	14	8,43	1,41	0,38	7,03	10,83	7,89



Obr. 31: Krabičkový diagram pro znak „výška rostliny / průměr lodyhy pod květenstvím“.

Tab. 54: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „výška rostliny / průměr lodyhy pod květenstvím“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

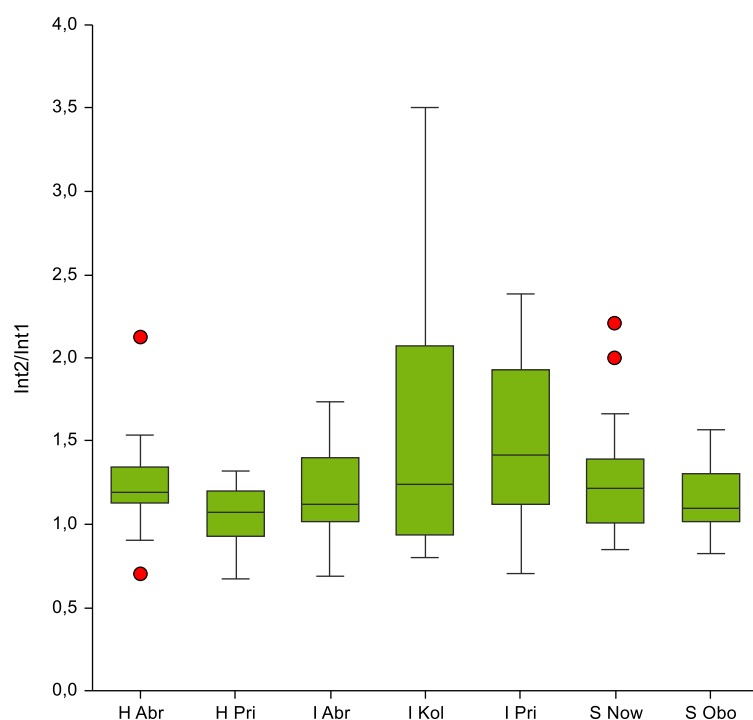
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	+	-	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	+	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	+	+	+
S Now	+	-	-	+	0	-	-
I Pri	-	-	-	+	-	0	-
H Pri	-	-	-	+	-	-	0

## Poměr prvních dvou internodií (Int2/Int1)

Data nespĺňovala podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA. Byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test, který ale neprokázal žádný signifikantní rozdíl v indexu mezi populacemi ( $H = 9,29$ ,  $df = 6$ ,  $P = 0,158$ ). I přes statisticky nevýznamné rozdíly v mediánech vykazovaly populace značné rozdíly ve vnitropopulační variabilitě, přičemž nejvíce variabilní v tomto znaku byla populace I Kolo (viz obr. 32). Tabulka 55 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability.

Tab. 55: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr prvních dvou internodií“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	1,51	0,74	0,17	0,80	3,50	1,24
I Abrod	15	1,19	0,28	0,07	0,69	1,73	1,12
H Abrod	13	1,24	0,32	0,08	0,70	2,13	1,19
S Obora	20	1,15	0,20	0,05	0,82	1,57	1,09
S Nowiny	16	1,17	0,23	0,06	0,84	2,21	1,21
I Pribovce	15	1,47	0,49	0,13	0,70	2,38	1,42
H Pribovce	14	1,06	0,17	0,05	0,68	1,32	1,07



Obr. 32: Krábíčkový diagram pro hodnoty znaku „poměr prvních dvou internodií“.

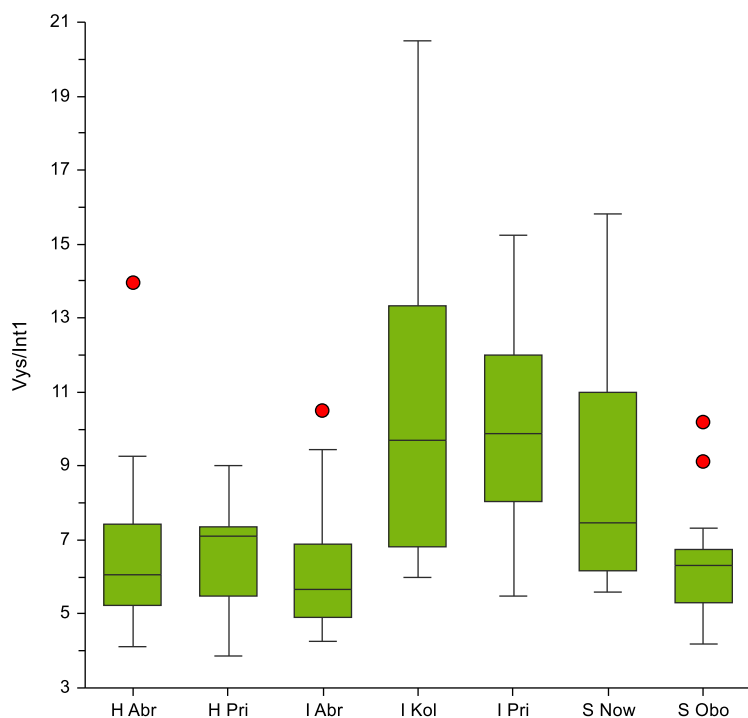


## Výška rostliny / délka 1. internodia (Vys/Int1)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 47,01$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Vysoká hodnota indexu vyjadřuje tendenci k nahloučení prvních dvou listů ve spodní části lodyhy. Rostliny z populací I Kolo a I Příbovce, méně pak S Nowiny, se od většiny ostatních populací liší právě vysokou hodnotou v tomto znaku (viz tab. 57). Tabulka 56 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 33.

Tab. 56: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny / délka 1. internodia“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	10,54	3,92	0,88	6,00	20,50	9,68
I Abrod	14	5,83	1,36	0,36	4,25	10,50	5,65
H Abrod	14	6,31	2,06	0,54	4,11	13,96	6,07
S Obora	18	6,28	1,44	0,32	4,18	10,19	6,30
S Nowiny	18	8,71	3,09	0,73	5,58	15,83	7,45
I Příbovce	15	9,90	2,86	0,74	5,50	15,24	9,88
H Příbovce	14	6,64	1,35	0,36	3,88	9,02	7,10



Obr. 33: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „výška rostliny / délka 1. internodia“.

Tab. 57: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „výška rostliny / délka 1. internodia“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

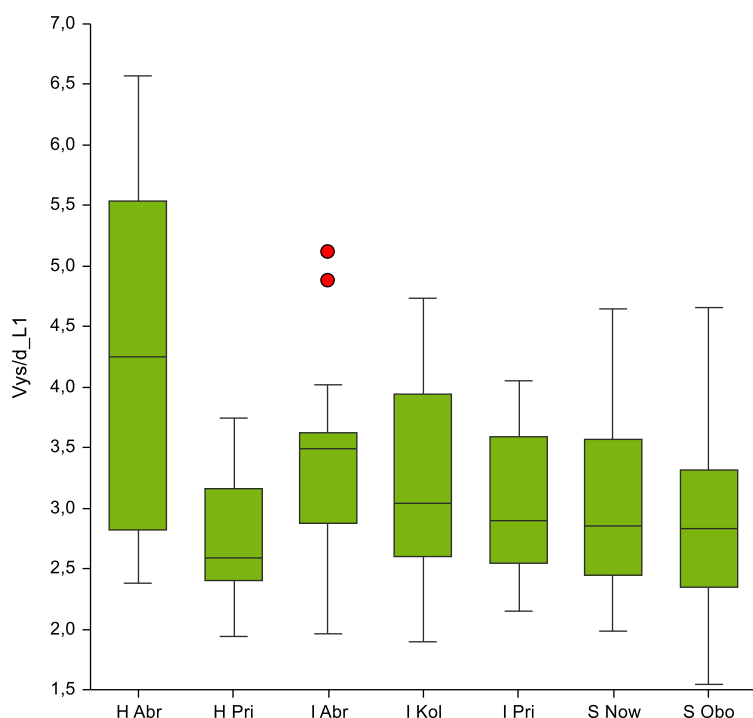
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	+	+	-	-	+
I Abr	+	0	-	-	+	+	-
H Abr	+	-	0	-	-	+	-
S Obo	+	-	-	0	+	+	-
S Now	-	+	-	+	0	-	-
I Pri	-	+	+	+	-	0	+
H Pri	+	-	-	-	-	+	0

### Výška rostliny / délka 1. listu (Vys/d\_L1)

Ve znaku byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,108} = 0,53, P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal výraznou odlišnost populace H Abrod od všech ostatních populací, přičemž nejméně odlišná byla populace I Abrod (viz tab. 59). Jedinci z populace H Abrod byli poměrně nízkého vzrůstu a délka jejich spodních listů byla ze všech populací v průměru nejmenší. Tabulka 58 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 34.

Tab. 58: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny / délka 1. listu“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	3,21	0,80	0,18	1,90	4,73	3,04
I Abrod	13	3,18	0,58	0,16	1,97	5,12	3,49
H Abrod	15	4,24	1,42	0,37	2,39	6,57	4,25
S Obora	20	2,85	0,74	0,16	1,54	4,66	2,83
S Nowiny	18	3,01	0,72	0,17	1,98	4,65	2,86
I Pribovce	15	3,02	0,61	0,16	2,15	4,05	2,90
H Pribovce	14	2,76	0,52	0,14	1,94	3,74	2,59



Obr. 34: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „výška rostliny / délka 1. listu“.

Tab. 59: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „výška rostliny / délka 1. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

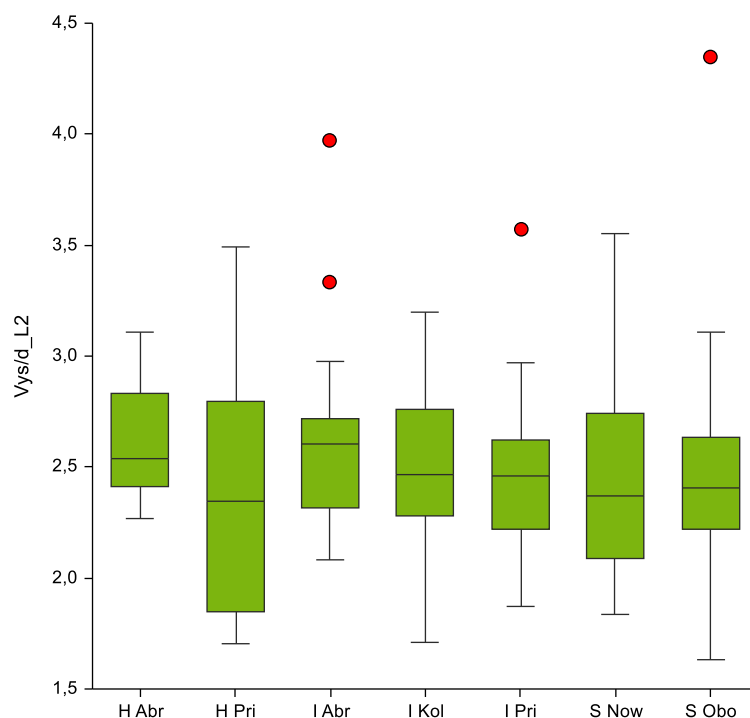
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	+	-	-	-	-
I Abr	-	0	+	-	-	-	-
H Abr	+	+	0	+	+	+	+
S Obo	-	-	+	0	-	-	-
S Now	-	-	+	-	0	-	-
I Pri	-	-	+	-	-	0	-
H Pri	-	-	+	-	-	-	0

### Výška rostliny / délka 2. listu (Vys/d\_L2)

Ve znaku nebyl zjištěn žádný signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,105} = 0,75, P = 0,611$ ). V porovnání s analýzou předchozího znaku byly hodnoty indexů všech populací velmi podobné, list svou délkou odpovídal přibližně  $\frac{1}{4}$  výšky rostliny. Tabulka 60 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 35.

Tab. 60: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „výška rostliny / délka 2. listu“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	2,47	0,36	0,08	1,71	3,20	2,46
I Abrod	13	2,49	0,25	0,07	2,08	3,97	2,60
H Abrod	15	2,62	0,26	0,07	2,27	3,11	2,54
S Obora	18	2,44	0,60	0,13	1,39	4,35	2,41
S Nowiny	18	2,44	0,44	0,10	1,83	3,55	2,37
I Pribovce	14	2,42	0,32	0,09	1,88	3,57	2,46
H Pribovce	14	2,36	0,56	0,15	1,70	3,49	2,35



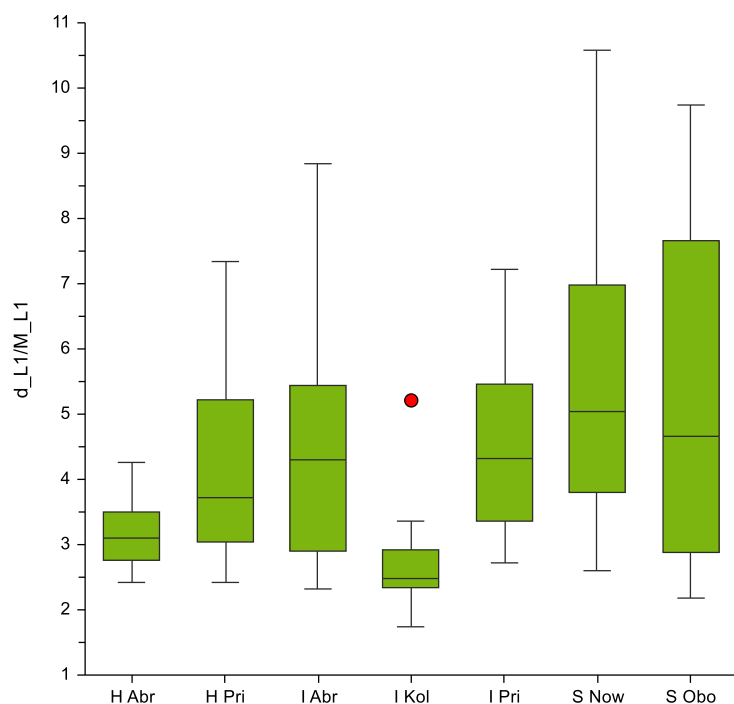
Obr. 35: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „výška rostliny / délka 2. listu“.

### Poměr délky 1. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 1. listu (d\_L1/M\_L1)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro parametrického testu, proto byla použit Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 39,45$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Nejvyššími hodnotami indexu byly zjištěny u populací *D. \*serotina*, i když signifikantní odlišnost byla prokázána jen od populací I Kolo a H Abrod (viz tab. 62). Tabulka 61 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 36.

Tab. 61: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr délky 1. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 1. listu“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	2,55	0,44	0,10	1,74	5,21	2,49
I Abrod	15	4,54	2,13	0,55	2,32	8,83	4,30
H Abrod	15	3,20	0,49	0,13	2,42	4,26	3,10
S Obora	20	5,22	2,56	0,57	2,18	9,73	4,65
S Nowiny	18	5,45	2,24	0,53	2,61	10,58	5,04
I Pribovce	15	4,49	1,46	0,38	2,71	7,23	4,32
H Pribovce	14	4,19	1,47	0,39	2,43	7,33	3,73



Obr. 36: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr délky 1. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 1. listu“.

Tab. 62: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr délky 1. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 1. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

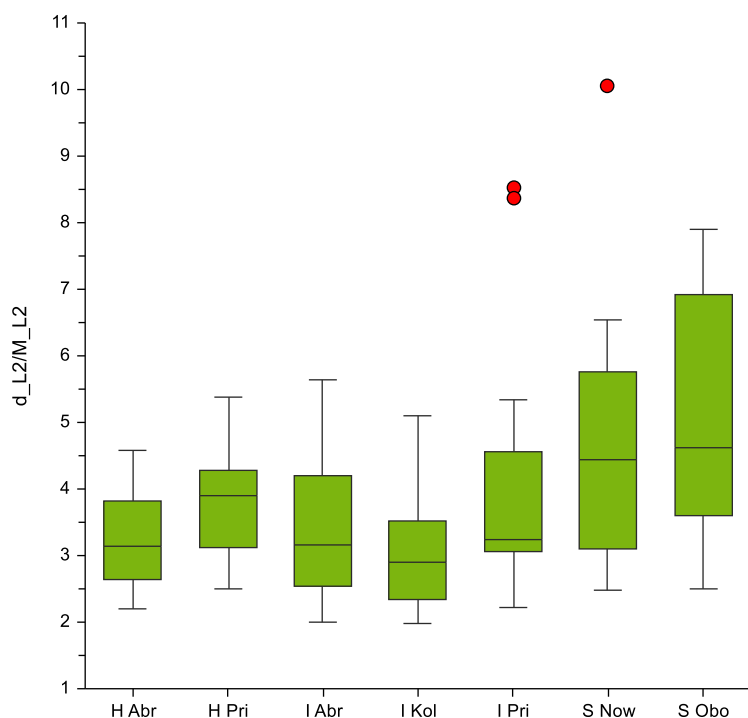
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	+	+	+	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	+	+	-	-
S Obo	+	-	+	0	-	-	-
S Now	+	-	+	-	0	-	-
I Pri	+	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

## Poměr délky 2. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 2. listu ( $d_{L2/M_{L2}}$ )

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 27,89$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Populace *D. \*serotina* na lokalitě Obora se lišila od všech ostatních populací, kromě populace S Nowiny (viz tab. 64). Tabulka 63 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 37.

Tab. 63: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr délky 2. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 2. listu“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	3,03	0,85	0,19	1,97	5,10	2,89
I Abrod	15	3,40	1,02	0,26	2,00	5,64	3,16
H Abrod	15	3,22	0,75	0,19	2,21	4,57	3,14
S Obora	20	5,03	1,71	0,38	2,50	7,90	4,62
S Nowiny	17	4,68	1,87	0,44	2,48	10,06	4,43
I Pribovce	13	3,47	0,83	0,23	2,21	8,53	3,25
H Pribovce	14	3,77	0,79	0,21	2,50	5,38	3,90



Obr. 37: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr délky 2. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 2. listu“.

Tab. 64: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr délky 2. listu a vzdálenosti nejširšího místa od báze 2. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

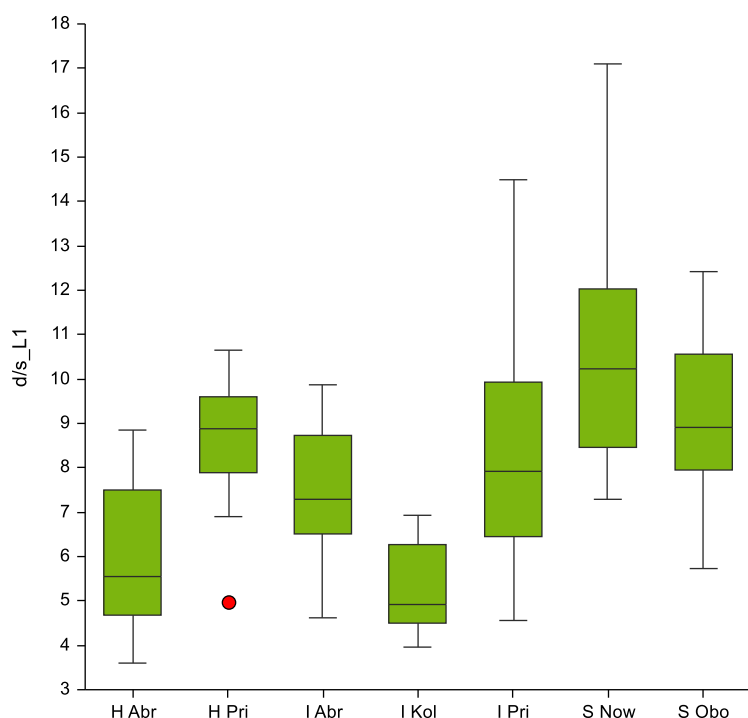
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	+	+	-	-
I Abr	-	0	-	+	-	-	-
H Abr	-	-	0	+	-	-	-
S Obo	+	+	+	0	-	+	+
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	+	-	0	-
H Pri	-	-	-	+	-	-	0

### Poměr délky a šířky 1. listu ( $d_{L1}/s_{L1}$ )

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 62,80$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Variabilita mezi populacemi byla poměrně velká. Populace s největším průměrným indexem (S Nowiny) měla listy v poměru až dvakrát delší, než populace I Kolo, kde byl index nejmenší. Tabulka 65 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 38. Výsledky testu mnohonásobného porovnání jsou shrnuty v tabulce 66.

Tab. 65: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr délky a šířky 1. listu“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	5,24	0,93	0,21	3,96	6,94	4,91
I Abrod	15	7,43	1,56	0,40	4,61	9,88	7,29
H Abrod	15	6,17	1,60	0,41	3,61	8,85	5,55
S Obora	20	9,05	1,73	0,39	5,74	12,42	8,91
S Nowiny	18	10,59	2,41	0,57	7,28	17,10	10,22
I Pribovce	15	8,23	2,51	0,65	4,56	14,50	7,93
H Pribovce	13	8,92	1,08	0,30	4,96	10,65	8,89



Obr. 38: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr délky a šířky 1. listu“.

Tab. 66: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr délky a šířky 1. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	+	-	-
H Abr	-	-	0	+	+	+	+
S Obo	+	-	+	0	-	-	-
S Now	+	+	+	-	0	+	-
I Pri	+	-	+	-	+	0	-
H Pri	+	-	+	-	-	-	0

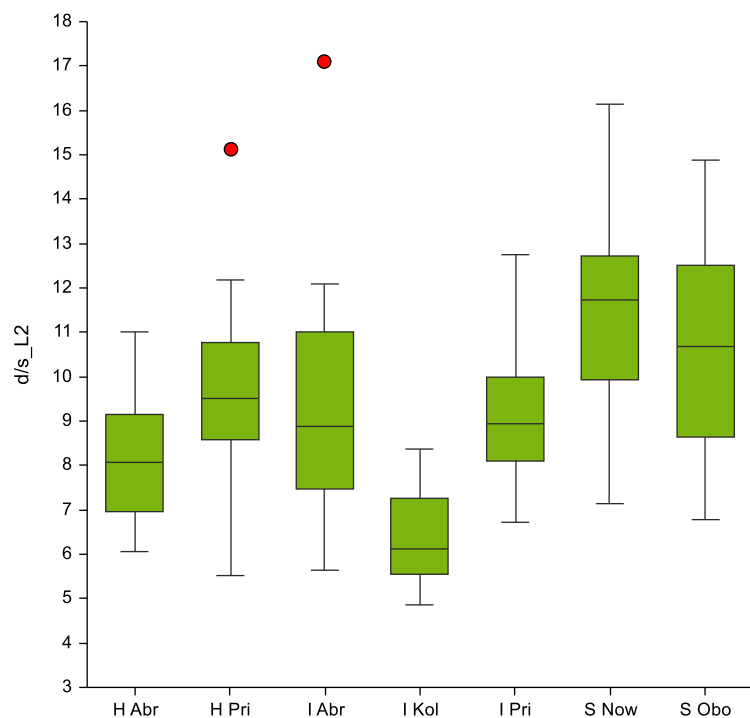
### Poměr délky a šířky 2. listu ( $d_{L2}/s_{L2}$ )

Ve znaku byl prokázán signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,108} = 15,30, P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal rozdíly mezi populacemi. Největší hodnoty indexu měly populace *D. \*serotina*. Výsledky jsou shrnuty v tab. 68. Tabulka 67 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 39.

Tab. 67: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr délky a šířky 2. listu“ ve studovaných populacích.



populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	6,31	1,01	0,23	4,86	8,38	6,11
I Abrod	14	8,87	2,05	0,55	5,63	17,10	8,88
H Abrod	15	8,11	1,49	0,39	6,05	11,00	8,06
S Obora	20	10,57	2,46	0,55	6,78	14,89	10,69
S Nowiny	18	9,93	2,43	0,60	7,93	14,12	9,60
I Pribovce	15	9,09	1,76	0,45	5,82	12,75	8,95
H Pribovce	13	9,32	1,73	0,48	5,52	15,13	9,50



Obr. 39: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr délky a šířky 2. listu“.

Tab. 68: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr délky a šířky 2. listu“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

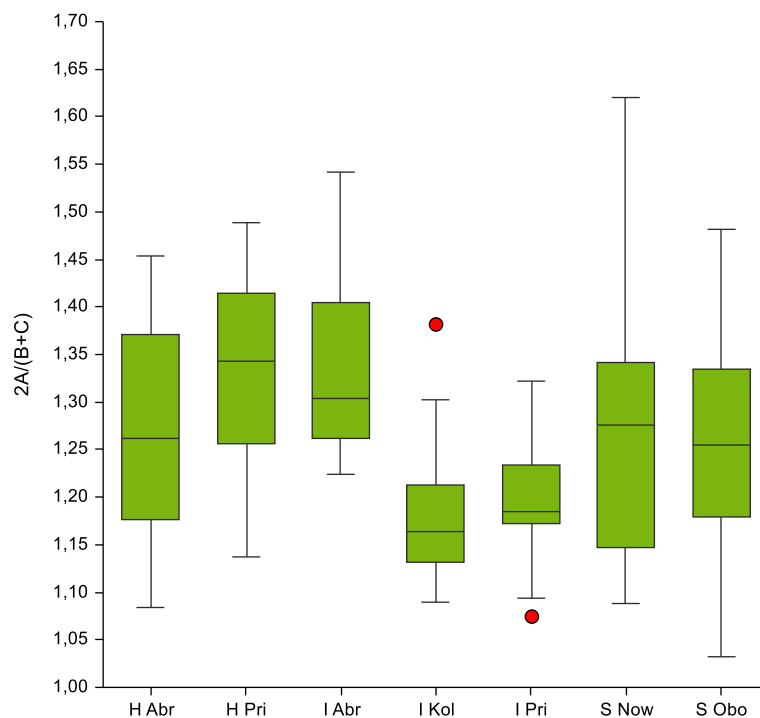
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	+	+	+	+
I Abr	+	0	-	-	+	-	-
H Abr	-	-	0	+	+	-	-
S Obo	+	-	+	0	-	-	-
S Now	+	+	+	-	0	+	+
I Pri	+	-	-	-	+	0	-
H Pri	+	-	-	-	+	-	0

## Heslop-Harrisonův index ( $2A/[B+C]$ )

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 31,38$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání prokázal signifikantní odlišnost dvou populací s nízkými hodnotami indexu, I Kolo a I Příbovce, od dvojice populací s vysokými hodnotami, H Příbovce a I Abrod (viz tab. 70). Tabulka 69 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 40.

Tab. 69: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „Heslop-Harrisonův index“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	1,17	0,05	0,01	1,09	1,38	1,16
I Abrod	15	1,33	0,10	0,02	1,22	1,54	1,30
H Abrod	15	1,26	0,11	0,03	1,08	1,45	1,26
S Obora	20	1,25	0,11	0,02	1,03	1,48	1,25
S Nowiny	18	1,27	0,14	0,03	1,09	1,62	1,28
I Příbovce	14	1,20	0,05	0,01	1,07	1,32	1,18
H Příbovce	14	1,33	0,10	0,03	1,14	1,49	1,34



Obr. 40: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „Heslop-Harrisonův index“.

Tab. 70: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „Heslop-Harrisonův index“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

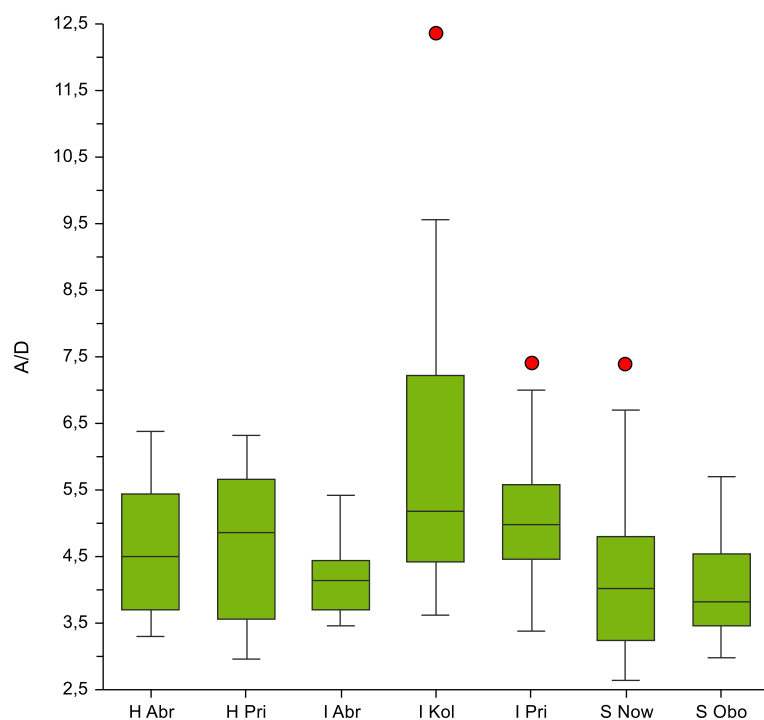
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	-	-	-	+
I Abr	+	0	-	-	-	+	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	-	-	-	0	-	-	-
S Now	-	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	+	-	-	-	0	+
H Pri	+	-	-	-	-	+	0

### Poměr délky středního úkrojků (A/D)

Pro znak nebyly splněny podmínky pro užití testu jednocestná ANOVA, proto byla použita neparametrická alternativa Kruskal-Wallisův test. Ten prokázal statisticky signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $H = 23,97$ ,  $df = 6$ ,  $P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání odhalil odlišnost populace I Kolo s nejvyšší hodnotou indexu od tří populací s nejnižší hodnotou indexu, tj. I Abr, S Now, S Obo (viz tab. 72). Tabulka 71 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 41.

Tab. 71: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr délky středního úkrojků“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	19	5,68	1,79	0,41	3,62	12,36	5,17
I Abrod	15	4,19	0,56	0,14	3,45	5,41	4,13
H Abrod	15	4,65	0,97	0,25	3,29	6,39	4,50
S Obora	20	4,01	0,74	0,16	2,97	5,70	3,82
S Nowiny	17	4,06	1,00	0,24	2,63	7,39	4,02
I Pribovce	14	4,95	0,90	0,24	3,38	7,41	4,98
H Pribovce	14	4,75	1,10	0,29	2,97	6,31	4,86



Obr. 41: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr délky středního úkroju“.

Tab. 72: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr délky středního úkroju“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

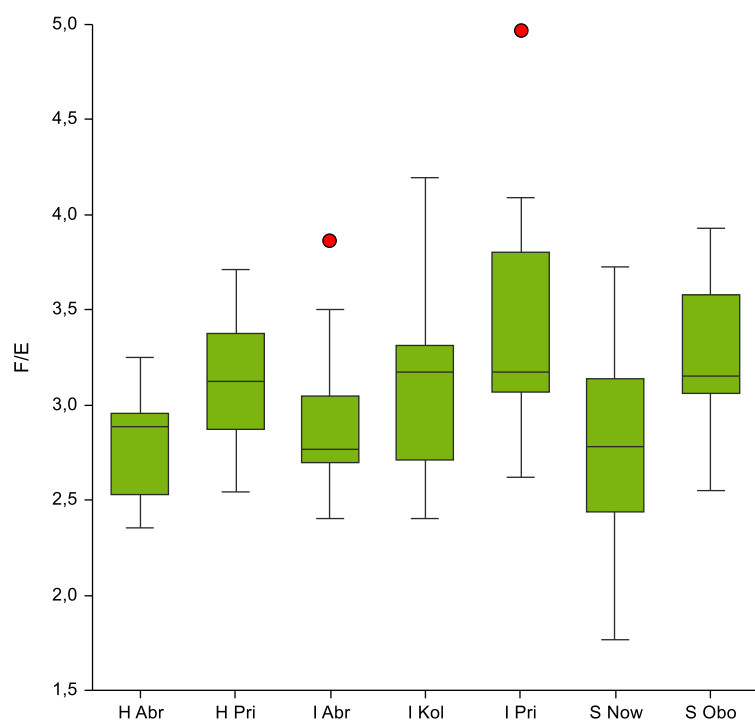
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	+	-	+	+	-	-
I Abr	+	0	-	-	-	-	-
H Abr	-	-	0	-	-	-	-
S Obo	+	-	-	0	-	-	-
S Now	+	-	-	-	0	-	-
I Pri	-	-	-	-	-	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

### Poměr šířky středního úkroju (F/E)

Ve znaku byl prokázán signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,108} = 4,80, P < 0,001$ ). Výsledky testu mnohonásobného porovnání jsou zhrnuty v tabulce 74. Signifikantní rozdíl byl prokázán i mezi populacemi S Nowiny a S Obora. Tabulka 73 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 42.

Tab. 73: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr šířky středního úkroju“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	3,11	0,47	0,11	2,40	4,19	3,17
I Abrod	14	2,82	0,26	0,07	2,40	3,86	2,77
H Abrod	15	2,83	0,29	0,08	2,36	3,25	2,89
S Obora	20	3,26	0,34	0,08	2,55	3,93	3,15
S Nowiny	18	2,77	0,54	0,13	1,76	3,72	2,78
I Pribovce	14	3,28	0,40	0,11	2,62	4,97	3,18
H Pribovce	14	3,11	0,35	0,09	2,55	3,71	3,12



Obr. 42: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr šířky středního úkroju“.

Tab. 74: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr šířky středního úkroju“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

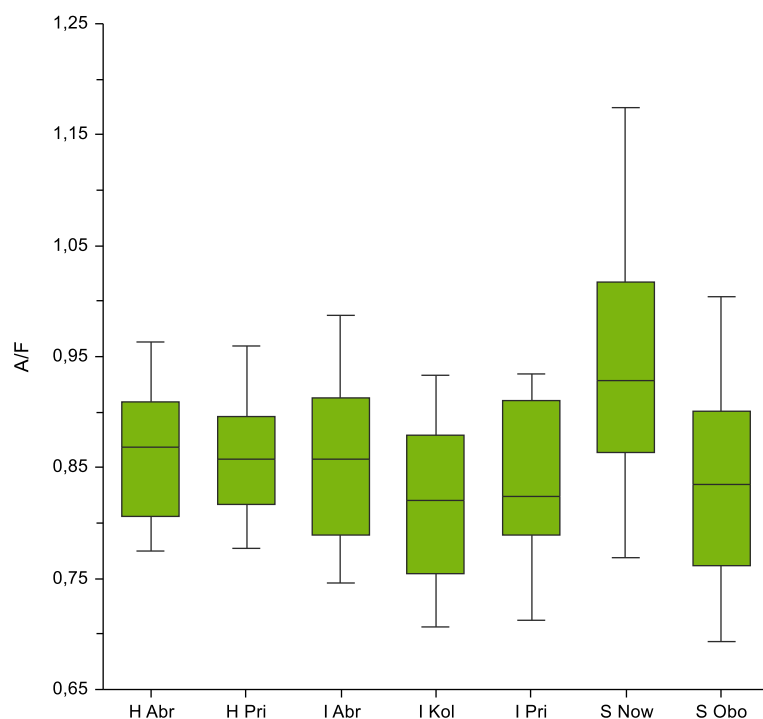
	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	-	-	-
I Abr	-	0	-	+	-	+	-
H Abr	-	-	0	+	-	+	-
S Obo	-	+	+	0	+	-	-
S Now	-	-	-	+	0	+	-
I Pri	-	+	+	-	+	0	-
H Pri	-	-	-	-	-	-	0

## Poměr délky a šířky pysku (A/F)

Ve znaku byl prokázán signifikantní rozdíl mezi populacemi ( $F_{6,110} = 5,90, P < 0,001$ ). Test mnohonásobného porovnání odhalil výraznou odlišnost populace S Nowiny od všech ostatních populací (viz tab. 76). Tabulka 75 zobrazuje základní popisné statistiky pro vyjádření populační variability. Graficky je variabilita znázorněna krabičkovými diagramy na obrázku 43.

Tab. 75: Shrnutí základních statistických údajů o znaku „poměr délky a šířky pysku“ ve studovaných populacích.

populace	n	X	SD	SE	min	max	median
I Kolo	20	0,82	0,07	0,02	0,71	0,93	0,82
I Abrod	14	0,86	0,08	0,02	0,75	0,99	0,86
H Abrod	15	0,87	0,06	0,02	0,78	0,96	0,87
S Obora	20	0,84	0,09	0,02	0,69	1,00	0,84
S Nowiny	18	0,95	0,11	0,03	0,77	1,17	0,93
I Pribovce	15	0,83	0,07	0,02	0,71	0,93	0,82
H Pribovce	14	0,86	0,06	0,02	0,78	0,96	0,86



Obr. 43: Krabičkový diagram pro hodnoty znaku „poměr délky a šířky pysku“.

Tab. 76: Výsledky mnohonásobného porovnání populací pro znak „poměr délky a šířky pysku“. Signifikantní výsledek je označen symbolem „+“, nesignifikantní symbolem „-“.

	I Kolo	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
I Kolo	0	-	-	-	+	-	-
I Abr	-	0	-	-	+	-	-
H Abr	-	-	0	-	+	-	-
S Obo	-	-	-	0	+	-	-
S Now	+	+	+	+	0	+	+
I Pri	-	-	-	-	+	0	-
H Pri	-	-	-	-	+	-	0

#### 4.2.5 Binárně kódované kvalitativní znaky

Kvalitativní znaky byly statisticky hodnoceny pouze v rámci mnohorozměrných analýz (PCA a fenetická analýza), kde byly vyjádřeny jako binární proměnné v případě analýz založených na jedincích, nebo jako frekvence výskytu určitého stavu daného znaku v populaci v analýzách založených na populacích. Frekvence byla vypočítána jako podíl jedinců, u kterých byl znak přítomen, na celkovém počtu jedinců v populaci. Tyto hodnoty pro jednotlivé populace jsou uvedeny v tab. 77 pro srovnání. Určité znaky byly uniformní u všech analyzovaných rostlin a byly proto z analýz vyřazeny.

Tab. 77: Přehled kvalitativních znaků vyjádřených jako frekvence výskytu těchto znaků v jednotlivých populacích. Pro detailnější popis znaků viz tab. 4.

Znak	Populace						
	I Kol	I Abr	H Abr	S Obo	S Now	I Pri	H Pri
zacr_L1	0,25	0,13	0,20	0,05	0,22	0,20	0,21
zlab_L1	0,30	0,13	0,27	0,25	0,67	0,13	0,29
vrch_L1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
zacr_L2	0,00	0,07	0,07	0,00	0,17	0,00	0,07
zlab_L2	0,20	0,13	0,47	0,20	0,61	0,13	0,14
vrch_L2	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
b_Lod_f	0,05	0,07	0,40	0,00	0,00	0,00	0,50
b_Vret_f	0,35	0,47	1,00	0,25	0,17	0,27	0,93
d_Listen	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
b_Ln_f	0,40	0,60	1,00	0,45	0,72	0,47	1,00
list_kv	0,90	0,87	0,87	0,85	0,39	0,93	0,93
skvrn_1	1,00	0,80	0,00	0,50	0,33	1,00	0,00
skvrn_2	0,00	0,20	0,00	0,50	0,67	0,00	0,00
skvrn_3	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00
b_Pysk_t	0,35	1,00	1,00	0,60	0,89	0,00	0,00
b_Okv_t	0,30	1,00	1,00	0,65	0,67	0,00	0,00
kres	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
kres_int	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
b_Ost_t	0,05	0,00	0,00	0,30	0,50	0,67	0,93
rd_Ost	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
zacr_ost	0,80	0,40	0,40	1,00	0,67	0,73	0,86



## 5. DISKUZE

### 5.1 Karyologické studium

Podle literatury by měly taxony okruhu *D. incarnata* mít diploidní počet chromozomů , rovnající se  $2n = 40$  (Delforge 2006, Kubát 2010). Signifikantní rozdíly v naměřeném relativním obsahu DNA mezi rostlinami z různých populací nejsou tak velké, aby poukazovaly na odlišný stupeň ploidie u některé z populací. Relativní obsah DNA byl vyjádřen indexem (viz kapitola 2.3.2), který u rostlin nabýval hodnot v rozsahu 0,75 až 0,88. Variabilita uvnitř populací byla poměrně malá, průměrné hodnoty mezi populacemi se lišily. Na základě těchto výsledků lze předpokládat, že všechny změřené rostliny měly přibližně stejnou velikost genomu a pravděpodobně i stupeň ploidie.

Pro spolehlivé stanovení počtu chromozomů (např. odhalení aneuploidie) by bylo nutné provést kalibraci pomocí roztlačkových preparátů. Pro další studium by bylo přínosné také stanovit absolutní obsah DNA metodou průtokové cytometrie s použitím barviva propidium jodid (PI).

Populace považované za *D. \*incarnata* a *D. \*hyphaematodes* ze stejné lokality se mezi sebou v indexu významně nelišily. Největší hodnotu indexu měly rostliny *D. \*serotina* z lokality Obora. Signifikantní rozdíly byly zjištěny mezi některými populacemi z různých lokalit, i mezi *D. \*serotina* z obou dvou lokalit. Mezi žádnými dvěma populacemi ze stejné lokality klasifikovanými do dvou různých taxonů však rozdíly nejsou. Rozdíly v naměřené velikosti genomu tedy nemají žádnou souvislost s příslušností k (apriorně stanovenému) taxonu a spíše souvisí s příslušností jedinců k (geograficky odlehlým) populacím.

Na základě předkládaných karyologických zjištění lze také předpokládat, že žádný z taxonů nevznikl hybridizací s *D. majalis* nebo jiným tetraploidním taxonem. U takových rostlin by měl být obsah DNA zřetelně vyšší, odpovídající triploidům nebo tetraploidům.

## 5.2 Morfometrické studium

Jednotlivé morfologické znaky analyzované statistickými metodami popsány v kapitole 3.2.2 byly podrobně rozebrány a srovnány s popisy jednotlivých taxonů *D. incarnata* agg. v literatuře (např. Procházka 1980, Presser 2002, Průša 2005a, Delforge 2006, Kubát 2010).

Na lokalitě Obora byla zjištěna nejvyšší průměrná výška rostlin 42,5 cm (byla zde dokonce změřena vůbec nejvyšší rostlina v této studii s výškou 60 cm). Přitom pro *D. \*serotina* má být dle literatury charakteristická nižší výška, dosahující 25–35(–45) cm (Kubát 2010), případně pouze 15–30(–35) cm (Presser 2002). Na lokalitě Nowiny byly rostliny poněkud nižší, s průměrnou výškou 39,4 cm, stále ale relativně vysoké vzhledem k jejich apriorně předpokládané příslušnosti k *D. \*serotina*. Naopak nejnižší průměrná výška, pouze 33,6 cm, byla zjištěna na lokalitě Abrod v populaci rostlin s neskvřnitými listy, klasifikovanými proto jako *D. \*incarnata*. Tato hodnota stále odpovídá spodním hranicím popisované výšky pro nominální typ podle většiny autorů (např. Presser 2002, Průša 2005a, Kubát 2010). Nižší výška rostlin v tomto případě však může být způsobena pravidelným sečením na lokalitě v rámci managementových opatření, což bylo u druhu pozorováno i na jiné lokalitě v Bavorsku (v širším okolí Mnichova), kde rostliny z nesečené části měly zhruba dvojnásobnou výšku oproti rostlinám z části sekané (B. Trávníček, ústní sdělení). Někteří autoři uvádějí, že se také *D. \*hyphaematodes* od nominální subspecie odlišuje menší (Dítě 2002), nebo naopak větší výškou (Presser 2002). V této studii ale byly naměřené rozdíly ve výšce mezi populacemi ze stejné lokality zanedbatelné. Je tedy dosti pravděpodobné, že spíše než příslušnost k rozlišovaným taxonům, ovlivňují výšku rostlin stanovištní podmínky a management lokalit. Tento předpoklad by bylo velmi vhodné exaktně otestovat např. na několika lokalitách rozdělených na pravidelně sekanou a nesekanou část.

Delším květenstvím (absolutně i relativně v poměru k výšce rostliny) se od všech ostatních lišily rostliny na lokalitě Kolo. Bylo však pozorováno, že vyjádření tohoto znaku patrně zčásti závisí na rozkvetlosti rostliny a není proto asi vhodné mu přiřkládat velkou váhu. Také odlišnost v hodnotách tohoto znaku na lokalitě Kolo pravděpodobně byla zkreslena tímto vlivem, rostliny byly v době měření více rozkvetlé než na jiných lokalitách. Z těchto důvodů nebyl znak použit v mnohorozměrných analýzách. Pro další studium by bylo pravděpodobně vhodnější vyzkoušet analyzovat znak “počet květů“ a z něho vypočítané

indexy (např. hustotu květenství, tedy „počet květů / délka květenství“) nebo standardizovat dobu měření vzhledem ke stupni rozkvetlosti populace.

Délkou prvního i druhého internodia se od tří populací, mezi nimiž žádné významné rozdíly nejsou, odlišuje populace S Obora. Vzhledem k tomu, že rostliny z této populace se vyznačovaly největší výškou, je však vhodnější interpretovat rozdíly v indexech „výška rostliny / délka 1. internodia“ a „výška rostliny/ délka 2. internodia“. V těchto případech se vysokými hodnotami indexu od ostatních odlišují zejména populace I Kolo a I Příbovce, kde mají rostliny vzhledem ke své výšce krátká internodia a listy jsou tedy více nahloučené u báze lodyhy. Rozdíl v poměrech prvních dvou indexů mezi populacemi nebyl signifikantní, zajímavá je však velká variabilita ve znaku v populaci I Kolo.

Průměrné hodnoty tloušťky lodyhy pod květenstvím v populacích se pohybovaly v rozmezí 3,74–5,52 mm. Bateman & Denholm (1985) uvádí, že je průměr stonku u subsp. *incarnata* tlustší, než u subsp. *pulchella* (kterou považují za pravděpodobně totožnou s *D. \*serotina*). Ve znaku „Výška rostliny/průměr lodyhy“ se významně odlišily od většiny ostatních populace S Obora a I Kolo. Na Oboře byly rostliny nejvyšší, přitom měly lodyhy relativně úzké, s průměrem lodyhy podobným nízkým rostlinám na lokalitě Abrod. Na lokalitě Kolo měly rostliny v poměru ke své průměrné výšce velmi tlusté lodyhy, více než polovina rostlin zde měla lodyhu s průměrem větším než 5 mm.

Pro různé populace *D. \*serotina* byl zjištěn vůbec nejvyšší (6) i nejnižší (4,7) průměrný počet listů (byly sčítány lupenité listy s pochvou i „listenovité“ bez pochvy). V literatuře je pro *D. \*serotina* udáván počet listů 3–4 (Procházka 1980). Kubát (2010) uvádí, že *D. \*serotina* má mít 2–3(4) lupenité a další (0)1–2(3) listenovité listy. Rostliny na Oboře by svými hodnotami (průměrně 3,2 pochvatých a 1,5 nepochvatých listenovitých listů) těmto údajům přibližně odpovídaly. Jelikož byla v této populaci zjištěna největší výška, ve znaku „Výška rostliny/počet listů“ se výrazně odlišují od všech ostatních. Počty listů v populaci Nowiny (průměrně 4 pochvaté a 2 nepochvaté) odpovídají hodnotám uváděným pro nominální subspecii: 4–7 listů (např. Procházka 1980, Buttler 2000), 5–8 listů (Baumann et al. 2009), resp. (3)5–7 lupenitých a 1–2(3) listenovitých listů (Kubát 2010). Ve všech ostatních populacích byl průměrný počet listů nad 5, s počtem pochvatých listů 3,7–4 a nepochvatých listů 1–1,7. Za povšimnutí stojí lokalita Abrod, kde mají celkově nízké rostliny relativně velký počet listů, to však může být ovlivněno specifickým managementem lokality (kosení).

Jedním z nejdůležitějších znaků pro odlišení *D. \*serotina* od *D. \*incarnata* jsou také kratší a užší listy (Kubát 2010). Jiní autoři považují za podstatnou pouze šířku listu, která má být do 1,5 cm (Procházka 1980), resp. do 2 cm (Buttler 2000). Kubát (2010) udává rozměr listů pro *D. \*serotina* 9–12 x 1–1,5 cm, přičemž listy *D. \*incarnata* mají mít 12–20 x 1,5–3,0(-4,0) cm. Další autoři uvádějí rozměr listu nominátního taxonu 8–20 x 1,5–4 cm (Delforge 2006), případně až 13–31 x 1–3 cm (Procházka 2010). V populaci Nowiny rostly rostliny s velmi úzkými listy (první i druhý list byl průměrně užší než 1,5 cm), hodnoty uváděné pro *D. \*serotina* mírně převyšovaly pouze délkou listů. Rozměry listů jedinců na Oboře se však od uváděných hodnot výrazně vzdalují, byla zde zjištěna nejvyšší průměrná délka prvního i druhého listu a šířka v obou případech přesahovala 1,5 cm. Naopak průměrná délka prvního listu (88,7 mm) v populaci *D. \*hyphaematodes* na lokalitě Abrod je velmi malá, a to jak absolutně, tak i relativně vzhledem k výšce rostliny. Tímto se liší dokonce i od neskvrnité populace ze stejné lokality. Ve znaku „délka 1. listu / šířka 1. listu“ se od většiny dalších tato populace odlišuje také. S velmi širokými (průměrně až 25 mm), přitom ale relativně krátkými listy se odlišuje populace I Kolo. Další informaci o celkovém tvaru listů podává poměr délky listu ku vzdálenosti nejširšího místa tohoto listu od jeho báze. Listy nejširší hned u báze měli zejména jedinci *D. \*serotina*, zejména populace na lokalitě Obora. Naopak u rostlin z populace I Kolo se nejširší místo nacházelo až téměř v polovině listu. Znak „délka 2. listu / vzdálenost nejširšího místa 2. listu od báze listu“ je jediný, u kterého byl metodou hierarchická ANOVA prokázán signifikantní vliv taxonu, i když pouze těsně. Rozdíly mezi populacemi při analýze rozměrů prvního i druhého listu byly většinou podobné. U *D. \*incarnata* většinou nejhořejší nebo nejdělsí list dosahuje báze květenství, zřídka přesahuje i vrchní květy (Procházka 1980, Delforge 2006). V každé z populací dosahoval list k bázi květenství přibližně u 90 % jedinců. Výjimkou je populace S Nowiny, kde byl tento stav zjištěn pouze u 39 % rostlin.

Pro většinu taxonů *D. incarnata* agg. (vyjma ale např. *D. \*cruenta*) jsou charakteristické listy víceméně přímé, s lodyhou téměř rovnoběžné (Průša 2005), nebo pod ostrým úhlem od lodyhy odstávající (Kubát 2010). Přesto byla ve znaku „úhel 1. listu vůči lodyze“ zjištěna poměrně velká proměnlivost uvnitř populací i mezi populacemi. Zjištěné hodnoty dosahovaly rozmezí 10° až 65°. Dvě ze tří nejmenších průměrných hodnot mají jedinci taxonu *D. \*serotina*, třetí z nich náleží subpopulaci H Příbovce. Ve znaku „úhel 2. listu vůči lodyze“ byla velmi variabilní populace I Abrod.

Mírné zakřivení se vyskytovalo na 5-25 % prvních listů a na 0-17 % druhých listů v populacích. Zakřivení listu bylo vždy pouze mírné, list odstával od lodyhy vždy pod ostrým úhlem. Žlábkovitost prvního listu se vyskytovala u 13-67 %, druhého u 13-61 % rostlin. Vyšší frekvence žlábkovitých i zakřivených listů je dle dat přítomna v populaci S Nowiny, jinak se ale přítomnost znaku jeví jako náhodná. Dalším znakem charakteristickým pro *D. incarnata* agg. je špičatý vrchol listu zakončen kápovitou špičkou (např. Potůček 1969, Kubát 2010). Všechny listy studovaných rostlin byly takto zakončeny a nebyla pozorována žádná významná proměnlivost.

Skvrnitost listů byla řazena do tří kategorií (viz kapitola 3.2.1). Dle různých autorů mají být listy *D. \*serotina* neskvrnité (Presser 2002), nebo s drobnými tečkami, nevýrazně světle hnědými, přítomnými na líci celé plochy listu nebo při okraji (Kubát 2010). Listy u *D. \*pulchella*, kterou někteří autoři stotožňují s *D. \*serotina* (např. Bateman & Denholm 1985), mají být vždy neskvrnité. V populacích považovaných za *D. \*serotina* se objevily drobné skvrny na listech u 50 % rostlin na Oboře a 67 % rostlin v populaci Nowiny. Skvrny byly podobné popisu Kubáta (2010), vždy však pouze v malém počtu při okraji listu. Ostatní rostliny v populaci byly zcela neskvrnité. Zajímavá je přítomnost podobných skvrn u 20 % rostlin považovaných za *D. \*incarnata* na lokalitě Abrod. Rostliny považované za *D. \*hyphaematodes* z této i další lokality Příbovce měly listy hustě a oboustranně skvrnité. Skvrny byly větší a zřídka se spojovaly ve zbarvené plochy. Barva byla tmavě hnědá až purpurová, v některých případech jakoby vymytá. Je uváděno, že intenzita barvy skvrn klesá po začátku kvetení (Dítě 2002, Presser 2002, Procházka 1980). *D. \*hyphaematodes* mají charakterizovat i tmavě červeně naběhlé listeny a vrch stonku (Presser 2002), případně celá rostlina (Procházka 1980). Tomu odpovídají vyšší frekvence přítomnosti tmavě zbarvené lodyhy pod květenstvím, listenů i včetně květenství u populací H Abrod a H Příbovce. I v ostatních populacích se však nacházeli poměrně často jedinci s tmavším zbarvením v horní části lodyhy. Například až u 72 % rostlin v populaci S Nowiny byly tmavě fialově zbarvené listeny, u 47 % rostlin v populaci I Abrod bylo tmavší zbarvení včetně květenství.

Pro vyjádření rozměrů spodního pysku byly použité znaky A-F. Většina autorů se shoduje, že mají rostliny *D. incarnata* agg. pysk celistvý nebo mělce trojlaločný, na okraji drobně vroubkovaný, podlouhlého, obvejčitého nebo rombického tvaru (např. Kubát 2010, Procházka 1980, Delforge 2006, Průša 2005a).

Dle různých autorů je pysk dlouhý 6-9 mm (Baumann et al. 2007), 4,5-8(-9) mm (Buttler 2000, Delforge 2006), 5-8 mm (Kubát 2010), 5,5-8,5 (Procházka 2010) nebo 5-7 mm

(Průša 2005a). Delforge (2006) také uvádí, že je pysk stejně dlouhý jako široký, případně delší. Šířka pysku uvedená v literatuře je 5,5-8 mm (Baumann et al. 2009), 5-9 mm (Buttler 2000) nebo 4,5-5 mm (Průša 2005a). Na základě poměru délky a šířky pysku byly u všech studovaných populací pysky širší než dlouhé. Tento rozdíl může být však způsoben odlišnou metodou měření. V této práci byly měřeny naskenované, ploše vyrovnané pysky, zatímco údaje z literatury mohou odpovídat měření pysku v přirozeném tvaru na rostlině. Výrazně se odlišila populace S Nowiny, kde byla hodnota indexu 0,95, tedy pysk téměř stejně dlouhý jako široký. Průměrná délka pysku u všech studovaných populací měla hodnoty 5,2-6,2 mm a šířka 5,6-7,6 mm.

Ve znacích A-F (kromě D, ve kterém nebyl prokázán signifikantní rozdíl mezi populacemi, hodnoty tohoto znaku jsou teoreticky ale pouze rozdílem hodnot znaků A a C) se nejčastěji odlišovala populace I Kolo s největšími hodnotami. Květy v této populaci byly obecně největší. Kvůli celistvému, mnohdy až téměř zaokrouhlenému pysku, který se vyskytoval na některých jedincích v každé z populací, bylo někdy problematické přesně změřit hodnotu B a C, která se týká krajních laloků. Proto mají pravděpodobně větší váhu indexy délky středního úkrojku, šířky středního úkrojku a poměr délky a šířky pysku, než Heslop-Harrisonův index. Tento index je zejména u skupiny *D. maculata* agg. považován za důležitý rozlišovací znak (Buttler 2000). Ve své práci jej použili i Bateman & Denholm (1985), zjištěná variabilita byla však malá a nebylo možné jej použít pro identifikaci poddruhů *D. incarnata*.

Prostřední úkrojek pysku má být dlouhý 0,8–2,3 mm a široký 1,5–3,0 mm (Baumann et al. 2007). Žádná z populací nebyla ve znacích D a E příliš variabilní, všechny průměrné hodnoty odpovídaly těmto údajům. V poměru délky středního úkrojku se však odlišily rostliny z populace Kolo, s malým středním úkrojkem v poměru k dlouhému pysku. Poměr šířky středního úkrojku odlišil od sebe několik populací, není zde však patrný žádný vztah ke konkrétním lokalitám nebo klasifikaci do taxonu. Dle Kubáta (2010) je proměnlivost ve tvaru pysku a tvaru a délce ostruhy málo nápadná a taxonomicky málo významná. Mírné zakřivení ostruhy směrem dolů bylo pozorováno ve 40-100 % případech ve všech populacích, proměnlivost v tomto znaku ale nemá vztah ke klasifikaci do taxonu a jeví se jako náhodná. Nezřídka bylo možné na jedinci najít květy s mírně zakřivenou ostruhou a současně vrchní mladší květy s ostruhou zcela přímou. Různí autoři uvádí, že ostruha má být sehnutá, zdělí 1/2 semeníku (Kubát 2010), nebo vodorovná až mírně skloněná, přibližně zdělí 2/3 semeníku (Baumann et al. 2009). Zjištěná relativní délka ostruhy vzhledem k semeníku pro tento účel

neposkytla příliš informací, bylo pouze ověřeno, že u všech rostlin byla ostruha kratší než semeník. Pro budoucí studium je pravděpodobně vhodnější srovnávat délku ostruhy v poměru k polovině délky semeníku, případně použít index srovnávající absolutní délku ostruhy k délce semeníku. Tento index uvedl Sundermann (1975) jako znak k rozlišování poddruhů. Bateman & Denholm (1985) také v procentech vyjádřili délku ostruhy k délce semeníku, variabilita znaku byla ale malá a nebylo podle něj možné od sebe odlišit taxony.

Tmavší zbarvení ostruhy na lokalitě Příbovce a méně často pak v populacích S Obora a S Nowiny nekoreluje se zbarvením pysku ani tmavě naběhlou vrchní částí lodyhy. Pysk *D. \*incarnata* má být růžově červený (Kubát 2010), případně pleťové až masově růžový, tmavší nebo světlejší barvy (Dítě 2002, Baumann et al. 2007). *D. \*serotina* má mít pysk tmavší (Presser 2002), barvy červeně fialové (Kubát 2010) nebo nachové (Buttler 2000). Pysk *D. \*pulchella* má být tmavší než u nominátního typu, nachově fialové barvy (např. Delforge 2006, Baumann et al. 2007). Bateman & Denholm (1985), považují *D. \*pulchella* za pravděpodobně totožnou s *D. \*serotina* a tmavší zbarvení květů se sytější červenou kresbou a přítomnost antokyanů v listenech označují za jedny z nejdůležitějších rozlišovacích znaků této subspecie. Pouze Dítě (2002) popisuje barvu pysku u *D. \*pulchella* právě naopak, jako světle pleťově růžovou až téměř bílou, světlejší než u *D. \*incarnata* či *D. \*hyphaematodes*. Barva pysku a ostatních okvětních lístků ve všech studovaných populacích byla světle růžová nebo tmavě fialová a bylo možné všechny jedince zařadit do jedné z těchto dvou kategorií. Zajímavostí je, že barva byla často jednotná u všech rostlin na lokalitě, a to i ve smíšených populacích s *D. \*hyphaematodes* (na lokalitě Abrod byly pysky tmavé, v Příbovcích výhradně světlé). Spíše světlejší, s občasným výskytem tmavších květů měli jedinci na lokalitě Kolo. Na lokalitě Nowiny měly rostliny pysky tmavé, až nachové, odpovídající popisům pysků pro *D. \*serotina*. Pozoruhodná byla lokalita Obora, kde bylo možné rozlišit jedince dvou dobře odlišitelných barevných forem, světlejší a tmavší, víceméně bez přechodných typů.

### 5.3 Hodnocení studovaných populací

Na základě provedených analýz je patrné, že variabilita mezi studovanými populacemi *D. incarnata* agg. je poměrně velká a jejich jednoznačné zařazení do taxonu není jednoduché. Populace studované v této práci byly před analýzami apriorně přiřazeny k jednomu ze tří taxonů na základě několika kritérií (zejména doba květu a skvrnitost listů). Při porovnání vlastností zjištěných u studovaných populací s údaji uváděnými pro jednotlivé taxony v literatuře se ale údaje často podstatně lišily a na základě různých kritérií bylo nezdědka přiřazení populací k některému z taxonů nejednoznačné.

Na lokalitě Kolo byly rostliny velmi robustní. I když nevynikaly extrémní výškou, tlustá lodyha, široké listy a také největší rozměry pysku je výrazně odlišovaly od ostatních populací. Zjištěnými hodnotami odpovídala populace nominální subsp. *incarnata*, několik jedinců by bylo možné přiřadit i kvar. *sublatifolia*, která je z Bílých Karpat udávána (Procházka 1980).

Obě populace z lokality Příbovce byly v průměrných hodnotách znaků nejméně extrémní, také se v nejméně případech odlišovaly od ostatních populací. Rostliny z této lokality byly v mnoha znacích ale velmi variabilní, zejména např. v porovnání s dvojicí populací na lokalitě Abrod. Kvůli současnému výskytu *D. majalis* (tetraploid) na lokalitě Příbovce bylo několik jedinců považováno za potencionální křížence *D. ×aschersoniana*. Jelikož byl u všech nasbíraných vzorků zjištěn přibližně stejný relativní obsah DNA, který s velkou pravděpodobností neodpovídal triploidní nebo tetraploidní úrovni, jak lze u potenciálních hybridů mezi diploidy a tetraploidy očekávat, byla tato možnost zamítnuta. Jediné signifikantní rozdíly mezi populacemi *D. \*incarnata* a *D. \*hyphaematodes* na lokalitě Příbovce byly zjištěny u Heslop-Harrisonova indexu a v poměru výšky k prvnímu internodiu. V ostatních znacích týkajících se rozměrů pysku však podstatné rozdíly nejsou. Jde pravděpodobně o náhodně se vyskytující odchylku, způsobenou malým počtem studovaných jedinců v populacích, nebo o fixovanou odchylku způsobenou mutací.

Na lokalitě Abrod se mezi populacemi považovanými za dva taxony vyskytl signifikantní rozdíl u tří znaků: poměru výšky rostliny a délky prvního internodia (Vys / Int1) a úhlu prvního a druhého listu vůči lodyze (uhel\_L1 a uhel\_L2). V populaci *D. \*hyphaematodes* byly oba spodní listy v průměru méně odkloněné od lodyhy. V obou případech byl rozdíl průměrů mezi populacemi přibližně 12°. Zajímavý je celkový nízký



vzrůst, ale i malý průměr lodyh a malé rozměry listů rostlin na lokalitě Abrod. Srovnáme-li naměřenou výšku a rozměry na listech s údaji z literatury, bylo by možné klasifikovat tyto rostliny jako subsp. *serotina*, případně subsp. *pulchella*, která je také z lokality udávána slovenskými botaniky (Dítě 2002). *D. \*pulchella* na této lokalitě má ale mít 3-4 neskvrnitě listy a světle pleťově růžové květy (Dítě 2002), což studované rostliny nesplňují. Celkově menší vzrůst může být projevem plasticity v důsledku pravidelného sečení lokality NPR Abrod v rámci managementových opatření (viz výše - kapitola 5.2), nebo se uplatňuje vliv ekologických podmínek stanoviště. Presser (2002) uvádí, že s narůstající kyselostí půdy mohou mít druhy rodu *Dactylorhiza* menší listy a celkově drobnější vzrůst. Analýza pH půdy ze studovaných lokalit by proto mohla přispět k lepšímu pochopení dalších souvislostí v dalším studiu. Na základě přítomnosti skvrn podobných typu „serotina“ na listech u 20 % rostlin studovaných na lokalitě Abrod by bylo tyto jedince možné přiřadit k *D. incarnata* f. *punctata* (Vermeulen) Bateman & Denholm popsané z Britských ostrovů (Bateman & Denholm 1985).

I když se populace S Nowiny blíží spíše mezním hodnotám znaků uváděným jako charakteristické pro *D. \*serotina* (např. Presser 2002, Kubát 2010), ze všech populací se tomuto poddruhu podobá nejvíce. Poměrně vysoké lodyhy nesou velmi úzké listy a rostliny mají subtilní habitus. Listy jsou téměř přitisklé k lodyze a v porovnání s ostatními populacemi jsou častěji žlábkovité a mírně zakřivené. Pysky jsou malé, téměř stejně dlouhé jako široké, s poměrně nápadným středním úkrojkem. V některých analýzách byla tato populace nejvíce odlišná od všech ostatních populací.

Další populace, která vykazovala mnoho odlišností od zbytku testovaného souboru, byla populace I Kolo, která však v řadě znaků (např. velikost pysku, poměr délky a šířky listů) zaujímal ve srovnání s populací S Nowiny opačnou pozici v celém spektru morfologické variability skupiny *D. incarnata*.

Rostliny z populace S Obora neměly v absolutních hodnotách listy úzké ani malé květy, v relativních délkách se však více podobaly rostlinám z populace S Nowiny (např. druhý list byl v populaci S Obora druhý relativně nejuzší po populaci S Nowiny). Ve shodě s popisem *D. \*serotina*, jak jej uvádějí Kubát (2010) a Presser (2002) měly nízký počet listů a malý průměr lodyhy. Data pro analýzu byly na Oboře a Nowinách sbírána ve třetím a čtvrtém červnovém týdnu, tedy 11-27 dní po sběru na ostatních lokalitách. Všechny rostliny byly v době sběru víceméně rozkvetlé, dobu začátku kvetení na jednotlivých lokalitách ale nebylo možné zjistit. V literatuře je uváděno, že *D. \*serotina* kvete až v červenci, zatímco nominální

subspecie již v květnu a v červnu (Kubát 2010), resp. že fenologický posun těchto dvou taxonů je tři týdny (Procházka 1980). U *D. \*pulchella* je uváděný posun v začátku kvetení 7-14 dní (Heslop- Harrison 1954), Bateman & Denholm (1985) ale pozorovali pouhých 4-7 dní. Je patrné, že ani pozdně kvetoucí populace *D. incarnata* agg. nejsou morfologicky uniformní a nelze je jednoduše vymezit pomocí několika morfologických znaků. Otázkou zůstává, zda ze dvou původně fenologicky izolovaných taxonů vznikly další přechodné populace, nebo je u *D. incarnata* agg. obecně velká variabilita v době kvetení a populace s extrémními hodnotami v určitých znacích jsou chybně popisované jako samostatné taxony. Možným problémem může být i použití nesprávných znakových souborů a příkládání příliš velké váhy znakům, které jsou do velké míry ovlivněny prostředím nebo dalšími vlivy.

#### 5.4 Navrhované taxonomické členění

Studium populací z pěti lokalit je pro vyvození spolehlivých závěrů nedostatečné. Pro směřodatnější výsledky veškerých analýz by bylo vhodné studovat více populací každého z taxonů a, pokud by to bylo možné, také zvýšit počet analyzovaných jedinců v každé z populací. Pro komplexní taxonomickou studii *D. incarnata* agg. by bylo vhodné do analýz zahrnout populace označované jako *D. incarnata* subsp. *pulchella*, které jsou rozlišované i na území Slovenska (Dítě 2002), a také populace *D. \*ochroleuca* a *D. \*cruenta*. K navrženým taxonomickým závěrům této práce je tedy potřeba přistupovat spíše jako k teoretickým hypotézám, které budou testovány v dalším výzkumu.

Lze předpokládat, že rozlišování *D. \*incarnata*, *D. \*pulchella*, *D. \*ochroleuca* a *D. \*cruenta* na úrovni samostatných druhů (Dítě 2002, Delforge 2006) je zjednodušující a tyto taxony by pravděpodobně zasluhovaly nižší taxonomické ranky. Podobně nesprávné se jeví hodnocení *D. \*serotina* a *D. \*haematodes*, resp. *D. \*hyphaematodes*, jako taxonů stejného ranku, ať už v kategorii subspecies (Buttler 2000, Presser 2002) nebo variety (Procházka 1980). V této práci se populace *D. \*hyphaematodes* a *D. \*incarnata* ze stejných lokalit lišily pouze skvrnitostí listů (což byl ovšem znak použitý jako kritérium při klasifikaci rostlin), ve znacích týkajících se zbarvení listenů a vřetene květenství a ve třech morfologických znacích nebo indexech. Tyto odlišnosti byly nejspíš způsobeny malým počtem analyzovaných jedinců, případně mohou představovat náhodně zafixovanou odchylku v málo početné skupině jedinců, ale nemají patrně taxonomický význam. Rozdíl v naměřeném

relativním obsahu DNA mezi některými populacemi byl signifikantní, ale relativně malý a u všech rostlin, včetně těch označených jako *D. \*hyphaematodes*, lze předpokládat stejný stupeň DNA ploidie. Navíc rozdíl v naměřeném relativním obsahu DNA mezi rostlinami označenými jako *D. \*hyphaematodes* a *D. \*incarnata* na lokalitách Příbovce a Abrod signifikantní nebyl. Odlišnost studovaných *D. \*hyphaematodes* od *D. \*incarnata* ze stejných lokalit spočívá hlavně v přítomnosti skvrn na listech a tmavším zbarvení vrchních částí lodyhy. Jedinci přiřazení k tomuto taxonu se také nacházeli výhradně ve smíšených populacích s rostlinami bez skvrnitých listů, považovanými za *D. incarnata* subsp. *incarnata*. Na základě těchto poznatků a údajů z literatury se jako nejvhodnější jeví hodnocení této odchylky pouze na úrovni formy nebo variety. Ze zahraničí jsou ale známé i čisté populace *D. \*hyphaematodes* (Delforge 2006). Presser (2002) uvádí, že takovéto nesmíšené populace vznikají rozvojem okolní vegetace, ve které je konkurenčně slabší nominální subspecie potlačena a přežívají pouze jedinci subsp. *hyphaematodes*, kterým se daří v poněkud vlhčím prostředí.

Složitější situace nastává při hodnocení populací označovaných jako *D. \*serotina*. Na základě této studie není možné uvést žádné morfologické znaky, které by byly charakteristické výhradně pro pozdně kvetoucí populace a které by zároveň nesdílela i část populací přiřazených zde apriorně k *D. \*incarnata*. Nelze ani konstatovat ve shodě s Kubátem (2010), že by se populace s pozdní fenologií zároveň vyznačovaly nízkým vzrůstem nebo charakteristickou barvou květů. Obě studované populace *D. \*serotina* byly morfologicky dosti odlišné, i když je otázka, zda nebyla tato odlišnost způsobena alespoň zčásti také odlišnostmi v charakteru biotopů na obou lokalitách. Proto nelze učinit žádné taxonomické závěry, dokud nebude analyzováno větší množství populací. Na základě zjištění této práce lze předpokládat, že některé z pozdně kvetoucích populací jsou relativně uniformní v morfologických znacích a odlišné od *D. \*incarnata* (je možné je považovat za *D. \*serotina*), zároveň jsou ale i pozdní dobou květu se odchylující populace *D. incarnata* s. str., které nemají významnou taxonomickou hodnotu.

Získaná data nasvědčují tomu, že rozlišování dvou populací na lokalitách Abrod a Příbovce bylo nevhodné a na každé lokalitě roste pouze jedna reálná populace, jelikož významné rozdíly mezi dvěma populacemi ze stejné lokality jsou minimální. Znak (přítomnost skvrn na listech), který byl v tomto případě použit pro rozlišení těchto dvou subpopulací, je velmi pravděpodobně pouze individuálním znakem. V takovémto pojetí by znakem populací *D. \*haematodes* mohla být schopnost generovat jedince se dvěma typy

pigmentace a právě tímto by se taxon odlišoval od *D. \*incarnata*, schopné generovat jedince pouze jednoho typu, v tomto případě neskvrnité. Pokud by bylo toto tvrzení správné a těmto populacím by byla přiznána hodnota variety, byly by na lokalitě Abrod a Příbovce za var. *hyphaematodes* označeny všechny rostliny v populaci, se skvrnitými, ale i neskvrnitými listy. Podobně by bylo možné uvažovat o *D. \*serotina*. Tyto rostliny mají mít květy tmavší barvy, než u *D. \*incarnata* (např. Presser 2002, Kubát 2010), na lokalitě Obora byli však pozorováni jedinci s velmi světlými květy, světlejšími než na lokalitě Kolo. Teoreticky by jedním ze znaků *D. \*serotina*, odlišujícím ji od *D. \*incarnata*, mohla být možná přítomnost rostlin s výrazně tmavšími, ale i světlejšími květy, tedy dvou kontrastně odlišných forem v jedné populaci.

## 6. ZÁVĚR

Na pěti lokalitách na území České republiky, Slovenska a Polska byly analyzovány populace taxonů z okruhu *Dactylorhiza incarnata*. Vzorky z celkem 90 rostlin byly podrobeny průtokové cytometrii, za účelem srovnání jejich relativního obsahu DNA mezi sebou. Mezi některými z populací byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl, přitom ale na základě získaných dat vše nasvědčuje tomu, že se žádná z rostlin nelišila od ostatních jiným ploidním stupněm. Předmětem dalšího studia může být upřesnění těchto výsledků, stanovení počtu chromozomů kalibrací s roztakovými preparáty nebo zjištění velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie s barvivem PI.

Celkem 57 morfologických znaků bylo měřeno nebo vyhodnoceno na 117 rostlinách z těchto populací a většina z těchto znaků byla použita pro účely fenetické analýzy, analýzy hlavních komponent a dalších statistických metod. Jedním z nejdůležitějších zjištění této práce byla velmi malá, až zanedbatelná odlišnost populací apriorně klasifikovaných jako *D. \*incarnata* a *D. \*hyphaematodes* na lokalitách Abrod a Příbovce. Tato skutečnost nasvědčuje tomu, že rozlišování těchto 7 populací různých taxonů nebylo správné a nelze v tomto případě analyzovat jednotlivé populace na základě individuálních znaků. Prezentovaná hypotéza, že na těchto lokalitách jsou ve skutečnosti pouze populace *D. \*hyphaematodes*, které se vyznačují přítomností skvrnitých a neskvřnitých jedinců, je třeba otestovat. Rostliny ze dvou populací *D. \*serotina* se mezi sebou lišily ve více znacích a tato situace také nasvědčuje tomu, že pozdně kvetoucí populace *D. incarnata* agg. není lehké charakterizovat několika jednoduchými znaky, je potřebné se na tuto problematiku dívat komplexněji a snažit se také identifikovat a odlišit vlivy prostředí.

## 7. POUŽITÉ ZDROJE

Aagaard S. M. D., Sastad A. M., Greilhuber J. & Moen A. (2005): A secondary hybrid zone between diploid *Dactylorhiza incarnata* subsp. *cruenta* and allotetraploid *D. lapponica* (*Orchidaceae*). – *Heredity* 94: 488-496.

Akhalkatsi M., Kimeridze M., Künkele S., Lorenz R. & Mosulishvili M. (2003): Diversity and conservation of georgian orchids.– CGS Ltd. Calamus, Tbilisi.

Akhalkatsi M., Lorenz R. & Mosulishvili M. (2007): Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Dactylorhiza* in Georgien (Kaukasus). – *Jber. Naturwiss. Ver., Wuppertal*.

Bateman R. M. & Denholm I. (1985): A reappraisal of the British and Irish dactylorchids, 2. The diploid marsh-orchids.– *Watsonia* 15: 321-355.

Bateman R. M., Hollingsworth P. M., Preston J., Yi-Bo L., Pridgeon A. M. & Chase M. W. (2003): Molecular phylogenetics and evolution of Orchidinae and selected Habenariinae (*Orchidaceae*). – *Bot. J. Linn. Soc.* 142: 1-40.

Baumann H., Künkele S. & Lorenz K. (2009): Orchideje Evropy a přilehlých oblastí.– Academia, Praha.

Bertolini V., Del Prete C. & Garbari 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.

Buttler K.P. (2000): Orchideje. Planě rostoucí druhy a poddruhy Evropy, Přední Asie a severní Afriky. – Ikar, Praha.

Čačko E. (1995): *Dactylorhiza ochroleuca*, nový taxón slovenskej flóry. – *Živa* 4:155.

Danihelka J., Chrtek J. & Kaplan Z. (2012): Checklist of vascular plants of the Czech Republic.– *Preslia* 84: 647-811.

De Hert K., Jacquemyn H., Van Glabeke S., Roldán-Ruiz I., Vandepitte K., Leus L. & Honnay O. (2012): Reproductive isolation and hybridization in sympatric populations of three *Dactylorhiza* species (*Orchidaceae*) with different ploidy levels. – *Ann. Bot.* 109: 709-720.

Delforge P. (2006): Orchids of Europe, North Africa and the Middle East. – A&C Black, London.

Devos N., Raspé O., Oh S. H., Tyteca D., Jacquemart A. L. (2006): The evolution of *Dactylorhiza* (Orchidaceae) allotetraploid complex: Insights from nrDNA sequences and cpDNA PCR-RFLP data.– Mol. Phylogenet. Evol. 38: 767-778.

Dítě D. (2002): Taxonómia, rozšírenie, ohrozenie a ochrana rodu vstavačovec (*Dactylorhiza* Necker ex Nevski) na Slovensku. – Ms. [Rigor. pr. depon. in. FPV UMB, Banská Bystrica]

Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007a): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – Nature protocols. 2: 9.

Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (eds.) (2007b): Flow cytometry with plant cells. Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes. – Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

Eliáš P., Dítě D., Kliment J., Hrivnák R. & Feráková V. (2015): Red list of ferns and flowering plants of Slovakia, 5th edition (October 2014). – Biologia 70/2: 218-228.

Foley M. J. Y. (2000): *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó subsp. *ochroleuca* (*Wüstnei* ex Boll) P. F. Hunt and Summerh. (Orchidaceae): A comparison of British and european plants. – Watsonia 23: 299-303.

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.

Grulich V. (2012): Red list of vascular plants of the Czech republic: 3rd edition. – Preslia 84: 631-645.

Hedrén M. (2001): Systematics of the *Dactylorhiza euxina/incarnata/maculata* polyploid complex (Orchidaceae) in Turkey: evidence from allozyme data. – Plant Syst. Evol. 229: 23-44.

Hedrén M. (2009): Plastid DNA haplotype variation in *Dactylorhiza incarnata* (Orchidaceae): evidence for multiple independant colonization events into Scandinavia. – Nord. J. Bot. 27: 69-80.

- Hedrén M., Fay M. F. & Chase M. W. (2001): Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) reveal details of polyploid evolution in *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*). – *Am. J. Bot.* 88(10): 1868-1880.
- Hedrén M., Nordström S. (2009): Polymorphic populations of *Dactylorhiza incarnata* s.l. (*Orchidaceae*) on the Baltic island of Gotland: morphology, habitat preference and genetic differentiation.– *Ann. Botany* 104: 527-542.
- Heslop-Harrison J. (1954): Some observations on *Dactylorhiza incarnata* (L.) Vermln. In the British Isles. – *Proc. Linnean Soc. Lond.* 166: 51-82.
- Hunt P. F. & Summerhayes V. S. (1965): *Dactylorhiza* Nevski, the correct generic name of the dactylorchids. – *Watsonia* 6(2).
- Inda L. A., Pimentel M. & Chase M. W. (2010): Chalcone synthase variation and phylogenetic relationships in *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*). – *Bot. J. Linn. Soc.* 163: 155-165.
- Jatiová M. & Šmiták J. (1996): Rozšíření a ochrana orchidejí na Moravě a ve Slezsku. – *Arca JiMfa, Třebíč*.
- Jersáková J. & Kindlmann P. (2004): Zásady péče o orchidejová stanoviště. – Kopp, České Budějovice.
- Kubát K. (2010): *Dactylorhiza* Nevski – prstnatec. – In: Štěpánková J., Chrtek J. & Kaplan Z., *Květena České republiky* 8: 502-523, Academia, Praha.
- Nordström S. & Hedrén M. (2009): Evolution, phylogeography and taxonomy of allopolyploid *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) and its implications for conservation. – *Nord. J. Bot.* 27: 548-556.
- Pedersen H. A. (1998): Species concept and guidelines ofr infraspecific taxonomic ranking in *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*). – *Nord. J. Bot.* 18: 289-310.
- Pedersen H. A. (2001): Late-flowering dune populations of *Dactylorhiza incarnata* (*Orchidaceae*): variation patterns and taxonomic inferences. – *Nord. J. Bot.* 21: 177-186.
- Pedersen H. A. (2009): Apochromic populations of *Dactylorhiza incarnata* s.l. (*Orchidaceae*): diversity and systematic significance as revealed by allozyme markers and morphology. – *Bot. J. Linn. Soc.* 159: 396-407.



- Pikner T. (2012): Taxonomic diversity of *Dactylorhiza* on Saaremaa. – Journal of the Hardy Orchid Society 9/4: 66.
- Pillon Y., Fay M. F., Shipunov A. B. & Chase M. W. (2006): Species diversity versus phylogenetic diversity: A practical study in the taxonomically difficult genus *Dactylorhiza* (Orchidaceae). – Biol. Cons. 129: 4-13.
- Pillon Y., Fay M. F., Hedrén M., Bateman R. M., Devey D. S., Shipunov A. B., Bank M. & Chase M. W. (2007): Evolution and temporal diversification of western European polyploid species complexes in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). – Taxon 56(4): 1185-1208
- Potůček O. (1969): Klíč k určování československých vstavačovitých. – Východočeské muzeum, Pardubice.
- Presser H. (2002): Orchideen. Die Orchideen Mitteleuropas und der Alpen. Variabilität, Biotope, Gefährdung. – Nikol Verlagsvertretungen, Hamburg.
- Procházka F. (1980): Naše orchideje. – Krajské muzeum východních Čech, Pardubice.
- Procházka F. (2010): *Orchidaceae* Juss. – vstavačovité.– In: Kubát K., Hrouda L., Chrtek J., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J., Klíč ke květeně České republiky: p. 767-783, Academia, Praha.
- Průša D. (2005a): Orchideje České republiky. – Computer Press, Brno.
- Průša D. (2005b): *Dactylorhiza ochroleuca* (Wustnei ex Boll) Holub- Prstnatec bledožlutý. – 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. 103, 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.
- Soó R. (1980): A magyar flora es vegetacio rendszertani novenyfoldrajzi kezikonyve: 6. (Synopsis systematico geobotanica florum vegetationisque hungariae: 6.). – Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Šuvada R., Dítě D., Hrivnák R. & Eliáš P. (2010): *Dactylorhiza incarnata* group in the Slovak Karst Mts. (Slovakia) and the Aggtelek Karst Mts. (Hungary). – Thaiszia – J. Bot. 20: 1-15.

- Trávníček P., Ponert J., Urfus T., Jersáková J., Vrána J., Hřibová E., Doležel J. & Suda J. (2015): Challenges of flow-cytometric estimation of nuclear genome size in orchids, a plant group with both whole-genome and progressively partial endoreplication. – *Cytometry Part A*. 87A: 958-966.
- Vallius E., Salonen V. & Kull T. (2004): Factors of divergence in co-occurring varieties of *Dactylorhiza incarnata* (Orchidaceae). – *Plant Syst. Evol.* 248: 177-189.
- Vallius E., Salonen V. & Kull T. (2008): Pollen flow and post-pollination barriers in two varieties of *Dactylorhiza incarnata s.l.* (Orchidaceae). – *Plant. Syst. Evol.* 274: 171-178.
- Vlčko J., Hrivnák R. & Balázs P. (2000a): New taxa in genus *Dactylorhiza* Neck. Ex Nevski and new localities in family Orchidaceae to Hungary. – *Kitaibelia* 5(1): 217-220.
- Vlčko J., Dítě D. & Jasík M. (2000b): Program záchrany kriticky ohroženého druhu *Dactylorhiza ochroleuca* (Boll) Holub na území Slovenska. In: ŠOP SR, Správa TANAP, pracovisko Liptovský Mikuláš.

## PŘÍLOHA

Příloha 1: Listy se skvrnami typu „haematodes“ z lokalit Abrod (dole) a Příbovce (vlevo nahore) a list s malými skvrnami u okraje, typu „serotina“, z lokality Obora (vpravo nahore).



Příloha 2: Detail květenství rostlin z lokalit Příbovce (vpravo nahoře), Obora (vlevo dole) a Abrod (vpravo dole). Vlevo nahoře jsou vedle sebe 2 rostliny lišící se skvrnitostí listů a listenů na lokalitě Příbovce, v práci považované za *D. \*incarnata* a *D. \*hyphaematoses*.

