



MASARYKOVA UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV BOTANIKY A ZOOLOGIE



**Morfologická variabilita druhů *Viola*
reichenbachiana a *Viola riviniana* ve středoevropské
části jejich areálu**

Diplomová práce

Dita Blažková

Vedoucí práce: Ing. Jiří Danihelka Ph. D.

Brno 2013

Bibliografický záznam

Autorka:	Bc. Dita Blažková Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav botaniky a zoologie
Název práce:	Morfologická variabilita druhů <i>Viola reichenbachiana</i> a <i>V. riviniana</i> ve středoevropské části jejich areálu
Studijní program:	Biologie
Studijní obor:	Ekologická a evoluční biologie
Vedoucí práce:	Ing. Jiří Danihelka Ph. D.
Akademický rok:	2012/2013
Počet stran:	59 + 17
Klíčová slova:	hybridizace, chromozomový počet, pylová viabilita, morfologické znaky, morfometrika

Bibliographic Entry

Author: Bc. Dita Blažková
Faculty of Science, Masaryk University
Department of Botany and Zoology

Title of Thesis: Morphological variation of *Viola reichenbachiana* and *V. riviniana* in the Central European part of their distribution range

Degree programme: Biology

Field of Study: Ecological and Evolutionary Biology

Supervisor: Ing. Jiří Danihelka Ph. D.

Academic Year: 2012/2013

Number of Pages: 59+17

Keywords: hybridization, chromosome number, pollen viability, morphometrics

Abstrakt

Dva lesní druhy violek *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana* jsou blízce příbuzné druhy, které sdílí společné stanoviště a velmi často jsou mezidruhoví kříženci. Snahou bylo zachytit morfologické rozdíly, které by korelovaly s počtem chromozomů. Z přírody bylo získáno a kultivováno 290 rostlin z 52 populací z České republiky i Evropy. Z některých rostlin byly odebrány kořínky pro počítání chromozomů nebo mladé lístky pro zjištění ploidní úrovně pomocí průtokové cytometrie. Byly zjištěny chromozomové počty u druhu *V. reichenbachiana* $2n = 20$, u druhu *V. riviniana* $2n = 40$ a u křížence *V. reichenbachiana* $\times$ *V. riviniana* $2n = 30$. Dále byla provedena morfometrická studie. Na plodech byla změřena délka chlopně tobolky, byl spočítán průměrný počet semen v tobolce a průměrná hmotnost semen, na květech byla změřena délka a šířka dolního korunního lístku a počet žilek na něm, délka ostruhy, délka mediálního kališního lístku a délka jeho přívěsku, délka prašníků a na listech byla změřena délka a šířka listové čepele, jejich poměr, poměr délek od nejširšího místa čepele po její okraje, poměr hloubky zářezu a délky listu a otevřenost zářezu. Byla provedena diskriminační analýza a jednofaktorová analýza rozptylu, která dokázala průkazné rozdíly mezi druhy na květech v rozměrech a kresbě na mediálním korunním lístku, v délce prašníků a délce kališního lístku i jeho přívěsku. Kříženec *V. reichenbachiana* $\times$ *V. riviniana* měl naměřené hodnoty intermediární mezi rodiči nebo se nelišil od druhu *V. riviniana*. Na listech byly průkazné rozdíly mezi druhy ve většině sledovaných znaků, a to na lodyžních listech i listech růžice. Kříženec byl střídavě podobný oběma rodičům, častěji druhu *V. riviniana*. U plodů byly zjištěny průkazné rozdíly mezi druhy v průměrném počtu semen v tobolce a v délce chlopně. V průměrné hmotnosti semen jsou průkazné rozdíly u tobolek vzniklých z chamogamických a kleistogamických květů, zvláště u druhu *V. reichenbachiana*. Většina vlastních výsledků se shodovala s údaji uváděnými v literatuře.

Abstract

Two species of violets growing in forest *Viola reichenbachiana* and *V. riviniana* are closely related species sharing one locality and interspecific hybrids are present very often. The aim of this work was to describe those morphological characters, that would correlate with the chromosome number. 290 plants of 52 Czech and European populations were obtained from nature to culture and they were cultivated. From some plants roots for chromosome counting were obtained and from others small leaves for flow cytometry were taken. Chromosome counts were found in *V. reichenbachiana* $2n = 20$, in *V. riviniana* $2n = 40$ and in the hybrid *V. reichenbachiana* $\times$ *V. riviniana* $2n = 30$. The morphometric study was also proceeded. On fruits the length of the capsule was measured, the average number of seeds per capsule and the average weight of seed were counted. On flowers the length and the width of the median sepal, the length of the spur, petals, petal appendages and anther were measured and the number of veins on the lower sepal was counted. On leaves the length and the width of the leaf were measured, their ratio was counted, the ratio of the distances from the widest spot to upper and lower edges, the ratio of the incision and the leaf length and the ratio of the incision width and depth were counted. Discriminant analysis and one-way analysis of variance proved significant differences between both species on flower dimensions and in the painting on the lower sepal, also in the anther length and the petal and petal appendages length. The hybrid *V. reichenbachiana* $\times$ *V. riviniana* was intermediate between parents or was not significantly different from *V. riviniana*. On leaves the differences between the two species were significant in the majority of chosen characters, mainly on the stem leaves. The hybrid was similar alternately to both parents, more often to *V. riviniana*. On fruits the significant differences were found in the capsule length and the average seed number. In the average seed weight there are significant differences between the chasmogamous and cleistogamous capsules. The majority of results were in agreement with the literature.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

pro: **Bc. Ditu Blažkovou**

obor:

Systematická biologie a ekologie – zaměření botanika

Název tématu: **Morfologická variabilita druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana* ve středoevropské části jejich areálu**

Anglický název: Morphological variation of *Viola reichenbachiana* and *V. riviniana* in the Central European part of their distribution range

Zásady pro vypracování:

Diplomová práce navazuje na bakalářskou práci obhájenou v roce 2009. Cílem práce je podrobně popsat morfologickou variabilitu druhů *Viola reichenbachiana*, *V. riviniana* a jejich křížence, a to na základě morfometrického studia jedinců se známým počtem chromozomů nebo známou ploidní úrovní. Z přírodních populací z různých míst České republiky a podle možnosti i dalších střeoevropských zemí budou odebrány populační vzorky do kultury tak, aby byl každý druh reprezentován nejméně 10 populacemi. U jednotlivých rostlin bude zjištěn chromosomový počet a nebo ploidní úroveň za použití průtokové cytometrie. Na preparovaných částech rostlin (listy a květy) budou změřeny vybrané morfologické znaky. Tyto znaky budou analyzovány metodami jednorozměrné a mnohorozměrné statistiky. Bude zhodnocena morfologická variabilita obou druhů (cytotypů) – pokud možno i vnitropopulační –, rovněž s ohledem na jejich praktickou determinaci za použití morfologických znaků. Pozornost bude rovněž věnována fertilitě obou druhů a jejich křížence, a to s ohledem na možný podíl recentní hybridizace na vzniku pozorované morfologické variability.

Postup: (1) Ve spolupráci s vedoucím práce dokončit odběr populačních vzorků do kultury. (2) U pěstovaných rostlin zjistit počet chromosomů nebo ploidní úroveň měřením na průtokovém cytometru. (3) Zhodnotit fertilitu rostlin v kultuře. (4) Během vegetačního období odebrat části rostlin pro morfometrické zpracování. (5) Morfometricky zpracovat vybrané části rostlin – zhodnocení a změření vybraných kvalitativních a kvantitativních znaků. (6) Analýza dat metodami jednorozměrné a mnohorozměrné statistiky. (7) Interpretace výsledků a srovnání s dosavadními poznatky.

Rozsah grafických prací:

Práce bude zpracována na PC, včetně grafického vyhodnocení.

Rozsah průvodní zprávy:

50-80 stran včetně tabulek, obrázků a grafů, 12ti bodové písmo, pevná vazba

Seznam odborné literatury:

Vedoucí práce doporučí základní studijní literaturu (podle citačních zvyklostí):

- 1) Gerstlauer L. (1943): Vorschläge zur Systematik der einheimischen Veilchen. – Ber. Bayer. Bot. Ges. 26: 12–55.
- 2) Harmaja H. (2003): A deviating cytotype of *Viola riviniana* from Finland. – Ann. Bot. Fenn. 40: 395–400.
- 3) Kirschner J. et Skalický V. (1990): *Viola* L. – violka. – In: Hejný S. et Slavík B. [eds.], Květena České republiky 2: 394–431, Academia, Praha.
- 4) Schöfer G. (1954): Untersuchungen über die Polymorphie einheimischer Veilchen. – Planta 43: 537–565.
- 5) Trees Frick I. (1993): Karyologische und morphologische Untersuchungen an *Viola reichenbachiana* Jord. ex Boreau und *Viola riviniana*. – Mitt. Naturforsch. Ges. Bern. 50: 81–98.
- 6) Valentine, D. H. (1941): Variation in *Viola riviniana*. – New Phytologist 40: 189–209.
- 7) Valentine D. H. (1958): Cytotaxonomy of the rostrate violets. – Proc. Linn. Soc. London 169: 132–134.
- 8) Valentine D. H. (1975): *Viola* L. – In: Stace C. A. [ed.], Hybridization and the flora of the British Isles, pp. 154–163, London.

Vedoucí diplomové práce:

ing. Jiří Danihelka, Ph. D.

Konzultant:

Mgr. Olga Rotreklová, Ph. D.

Datum zadání diplomové práce:

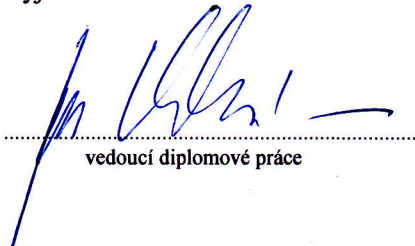
1. března 2010

Termín odevzdání diplomové práce:

30. dubna 2011

L.S.

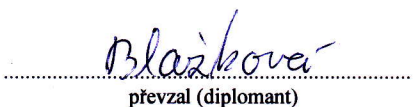
Vyjádření vedoucího oddělení: Se zadáním souhlasím.


vedoucí diplomové práce



ředitel ústavu

V Brně dne


převzal (diplomant)

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala Ing. Jiřímu Danihelkovi, Ph. D. za vedení práce a za jeho bezmeznou trpělivost při opravování chyb. Dále děkuji Mgr. Olze Rotreklové, Ph. D. za pomoc s počítáním chromozomů a měřením ploidní úrovně rostlin. Můj dík patří také všem kolegům, kteří se podíleli na vzniku bohaté sbírky populačních vzorků z přírody. Především ale děkuji svým rodičům a blízkým za obrovskou podporu a pevné nervy během studia i psaní této práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci vypracovala samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány. Souhlasím s uložením této diplomové práce v knihovně Ústavu botaniky a zoologie PřF MU v Brně, případně v jiné knihovně MU, s jejím veřejným půjčováním a využitím pro vědecké, vzdělávací nebo jiné veřejně prospěšné účely, a to za předpokladu, že převzaté informace budou řádně citovány a nebudou využívány komerčně.

Brno 9. ledna 2013

.....

Dita Blažková

Obsah

1. Úvod	10
2. Morfologická, fyto geografická a cytologická charakteristika druhů <i>Viola reichenbachiana</i> a <i>V. riviniana</i>	11
2.1. Rod <i>Viola</i>	11
2.2. Areály druhů	15
2.3. Variabilita druhu <i>Viola riviniana</i>	15
2.4. Hybridizace druhů <i>Viola reichenbachiana</i> a <i>V. riviniana</i>	17
2.5. Diskuse k literární rešerši	19
3. Metodika práce	21
3.1. Sběr rostlin	21
3.2. Kultivace	22
3.3. Odběr květů	24
3.4. Odběr listů	25
3.5. Odběr plodů	26
3.6. Počítání chromozomů	26
3.7. Průtoková cytometrie	27
3.8. Barvení pylových zrn	29
3.9. Výběr a měření morfologických znaků	30
3.10. Statistické zpracování	32
4. Výsledky	34
4.1. Tobolky a semena	34
4.2. Květy	37
4.3. Listy	42
4.4. Vítální barvení pylových zrn	51
5. Diskuse	52
6. Klíč k určení kvetoucích a plodných rostlin	57
Použitá literatura	58
Příloha 1	P1
Příloha 2	P13
Příloha 3	P17

1. Úvod

Druhů rodu *Viola* roste v České republice 26 a jsou rozdělené do několika sekcí, případně podsekcí. Zatímco nebotanická veřejnost považuje – s určitou mírou nadsázky – všechny violky za jediný druh, a to violku vonnou, kvetoucí zjara v okolí lidských sídel, většina floristů by tento nevědomý omyl často nejraději přijala za své, neboť určování violek je považováno za "determinační oříšek". Pro správné určení musíme totiž sledovat více znaků, jednotlivé druhy jsou značně proměnlivé a kromě toho existuje v celém rodě velké množství mezidruhových kříženců.

Viola reichenbachiana (violka lesní) a *V. riviniana* (violka Rivinova) jsou svým vzhledem i ekologicky velmi podobné a pravděpodobně blízce příbuzné lesní druhy, které se vyskytují na společných lokalitách, kde vytváří početné populace. Spolu s nimi se na lokalitách hojně vyskytují také mezidruhovní kříženci, a to do té míry, že se v literatuře často diskutuje o přítomnosti hybridních rojů a introgresi v důsledku zpětného křížení potomků s rodiči; někdy jsou dokonce slučovány v jeden souborný taxon. Vedle hypotézy o zpětném křížení by dalším vysvětlením potíží při determinaci mohla být velká morfologická variabilita druhu *Viola riviniana*.

V bakalářské práci jsem na populačních vzorcích z přírody pomocí morfometrických měření na květech a plodech dokazovala korelaci ploidní úrovně s některými morfologickými znaky. Cílem diplomové práce je (1) literární rešerše vysvětlující cytologické procesy, které se podílí na vzniku mezidruhových kříženců druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana*, (2) podrobně popsat morfologickou variabilitu druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana*, podpořit výsledky bakalářské práce, které potvrzují přítomnost dostatečného množství morfologických znaků, které korelují s počtem chromozomů, a rozšířit morfometrická měření také na lodyžní listy a listy růžice a zároveň zvětšit počet měřených jedinců.

2. Morfologická, fytogeografická a cytologická charakteristika druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana*

2.1. Rod *Viola*

Čeleď *Violaceae* je kosmopolitní a celosvětově do ní patří asi 900 druhů členěných do 25 rodů. Z nich nejpočetnější je rod *Viola* L., který podle různých autorů zahrnuje 525–600 druhů rozšířených převážně v mírně teplých oblastech severní polokoule a na jižní polokouli v horských oblastech a pohořích a poblíž rovníku (Ballard et al. 1999). Rodem *Viola* se monograficky zabýval Becker (např. 1910), který jemu známé druhy rozdělil do 14 sekcí a přibližně 28 dalších skupin na úrovni podsekcí (Ballard et al. 1999).

Podle floristické literatury se v České republice vyskytuje 26 druhů řazených do rodu *Viola* L. (tab. 1). Ten se dělí do tří sekcí *Viola*, *Melanium* a *Dischidium*. Sekce *Viola* je dále rozčleněna na čtyři podsekcce *Viola*, *Rastratae*, *Plagiostigma* a *Repentes* (Kirschner & Skalický 1990).

Tab. 1: Druhy rodu *Viola* v květeně České republiky a jejich vnitrorodová klasifikace (Kirschner & Skalický 1990)

Sekce	vědecké jméno	české jméno
sect. <i>Viola</i>		
subsect. <i>Viola</i>	<i>Viola ambigua</i> Waldst. et Kit.	violka obojetná
	<i>Viola collina</i> Besser	violka chlumní
	<i>Viola hirta</i> L.	violka srstnatá
	<i>Viola alba</i> Besser	violka bílá
	<i>Viola odorata</i> L.	violka vonná
	<i>Viola suavis</i> M. Bieb.	violka křovištní
subsect. <i>Rostratae</i> Kupffer	<i>Viola mirabilis</i> L.	violka divotvárná
	<i>Viola rupestris</i> F. W. Schmidt	violka písečná
	<i>Viola reichenbachiana</i> Boreau	violka lesní
	<i>Viola riviniana</i> Rchb.	violka Rivinova
	<i>Viola canina</i> L.	violka psí
	<i>Viola rupii</i> All.	violka Rupova
	<i>Viola stagnina</i> Schult.	violka slatinná
	<i>Viola pumila</i> Chaix	violka nízká
	<i>Viola elatior</i> Fr.	violka vyvýšená
subsect. <i>Plagiostigma</i> (Godron) Kupffer	<i>Viola palustis</i> L.	violka bahenní
	<i>Viola epipsila</i> Ledeb.	violka olýsalá
subsect. <i>Repentes</i> (Kupffer) W. Becker	<i>Viola uliginosa</i> Besser	violka močálová
sect. <i>Dischidium</i> Gingins	<i>Viola biflora</i> L.	violka dvoukvětá
sect. <i>Melanium</i> Gingins	<i>Viola lutea</i> Huds.	violka žlutá
	<i>Viola cornuta</i> L.	violka rohatá
	<i>Viola ×wittrockiana</i> Gams	violka zahradní, maceška
	<i>Viola kitaibeliana</i> Schult.	violka nejmenší
	<i>Viola arvensis</i> Murray	violka rolní
	<i>Viola tricolor</i> L.	violka trojbarevná
	<i>Viola saxatilis</i> F. W. Schmidt	violka skalní

Viola reichenbachiana Boreau a *Viola riviniana* Rchb. jsou vytrvalé byliny patřící do sekce *Viola*, podsekce *Rostratae* Kuppfer. Z bakalářské práce jsem převzala tabulku morfologických rozdílů mezi těmito druhy podle různých autorů (tab. 2). Druhy se od sebe liší také počtem chromozomů, který je u violky lesní $2n = 20$, u violky Rivinovy $2n = 40$ a u křížence $2n = 30$ (tab. 3). Společnými znaky jsou monopodiálně rostoucí oddenky bez výběžků, které vytvářejí květonosnou, obloukovitě vystoupavou lodyhu. Listy jsou dlouze řapíkaté, na bázi srdčité, lysé nebo roztroušeně přitiskle chlupaté, mělce vroubkovaně pilovité. Kališní lístky špičaté, s přívěsky, květy nevonné, čnělka hákovitá, zobánkatá. Tobolky jsou tupě trojhranné, na vzpřímených stopkách, pukavé. Semena jsou světle až tmavě hnědá, opatřená drobnými masíčky (Kirschner & Skalický 1990). Vedle chasmogamických květů existují u obou druhů několik milimetrů velké, kleistogamické květy se zakrnělými, zelenavými květními obaly. Proces opylení je u těchto květů autogamický.

Tab. 2: Srovnání některých morfologických znaků druhů *V. reichenbachiana* a *V. riviniana* podle literatury

Znak	<i>Viola reichenbachiana</i>	<i>Viola riviniana</i>
adventivní pupeny na kořenech		
Rich & Jermy 1998	chybějí	vyvinuty nebo chybějí
čepel (přízemních) listů		
Kirschner & Skalický 1990	čepel vejčitá až trojúhelníkovitá, delší než široká, 1,5–4 cm dlouhá, 1,5–3 cm široká	čepel vejčitá, až stlačeně okrouhle vejčitá, často širší než dlouhá, 3–4 cm dlouhá, 3–5 cm široká
Karlsson & Marcussen 2010	čepel vejčitá až protáhle vejčitá, 25–47 × 20–38 mm, 1,1–1,5krát delší než široká	čepel srdčitá, široce srdčitá nebo ledvinovitá, 25–45 × 22–38 mm, 1–1,4krát delší než široká
Valentine 1950	Tvary listů obou druhů jsou tak podobné, že tento znak nemůže být s jistotou použit k rozlišení rostlin, ačkoli je možné, že kvantitativní studie mohou ukázat jistý rozdíl.	
Trees-Frick 1993	listový index (poměr délky a šířky listové čepele) prokazatelně větší než u <i>V. riviniana</i> (1,4)	listový index (poměr délky a šířky listové čepele) menší než u <i>V. reichenbachiana</i> (1,24)
Rich & Jermy 1998	čepel na vrcholu tupá až zašpičatělá, tenčí, u listů vyrostlých koncem sezony nápadně větší	čepel na vrcholu tupá nebo zaokrouhlená, tlustší, během sezony přibližně stejně velká
palisty a třásně		
Kirschner & Skalický 1990	čárkovité až úzce kopinaté, 6–10 mm dlouhé, dlouze hustě třásnitě zubaté, při bázi palistu delší než šířka těla palistu, brzy hnědnoucí	široce až úzce kopinaté, až 12 mm dlouhé, dlouze hustě třásnitě zubaté, třásňovité zuby při bázi palistu ± stejně dlouhé nebo kratší než šířka nedělené části palistu
Karlsson & Marcussen 2010	úzce šídlovité, 7,5–11 mm dlouhé, hnědé, 7–11 tenkých třásní, které jsou delší než šířka báze palistu	šídlovité, 8–12,5 mm dlouhé, hnědé, 5–8 třásní, které jsou kratší než šířka báze palistu

Znak	<i>Viola reichenbachiana</i>	<i>Viola riviniana</i>
Valentine 1950		horní palisty u druhu <i>V. riviniana</i> jsou obecně spíše širší a mají kratší třásně než u <i>V. reichenbachiana</i>
Trees-Frick 1993	poměr délky třásně a šířky nečleněné části palistu 2,22	poměr délky třásně a šířky nečleněné části palistu 2,05
kališní lístky		
Kirschner & Skalický 1990	uzoučce až úzce trojúhelníkovité, až úzce kopinaté, i s přívěsky až 8 mm dlouhé	uzoučce až úzce trojúhelníkovité, i s přívěsky 8–12 mm dlouhé
Karlsson & Marcussen 2010	kopinaté, ostré, horní 4,5–6,7 × 1,1–1,8 mm, boční 4–6,5 × 0,8–2 mm (bez přívěsků)	kopinaté, ostré, horní 5–8 × 1,1–1,7 mm, boční 5,5–8,5 × 1,7–2,5 mm (bez přívěsků)
Valentine 1950	za plodu odstálé od tobolky	výrazně delší; za plodu zůstávají přitisklé k tobolce
Trees-Frick 1993	průměrně 6,57 mm dlouhé	průměrně 8,92 mm dlouhé, významně delší než u <i>V. reichenbachiana</i>
kališní přívěsky		
Kirschner & Skalický 1990	drobné, zaokrouhlené, úzké, max. 1,5 mm dlouhé (1/10–1/5 délky kališních lístků), za plodu se nezvětšující	velké, obdélníkovité, někdy vykrojené, 1,5–2, 5 mm dlouhé ($\pm 1/4$ délky kališního lístku), na plodech ještě větší (až 3 mm dlouhé)
Karlsson & Marcussen 2010	téměř okrouhlé až uťaté, horní 0,4–0,8 × 0,8–1,5 mm, postranní 0,3–0,8 × 0,6–1,5 mm, všechny 0,04–0,18krát tak dlouhé jako zbytek kališního lístku	téměř okrouhlé až uťaté, horní 0,8–1,8 × 0,6–1,3 mm, postranní 1,1–2,5 × 1,3–2 mm, všechny 0,15–0,35krát tak dlouhé jako zbytek kališního lístku
Valentine 1950		mnohem delší než u druhu <i>V. reichenbachiana</i>
Trees-Frick 1993	průměrně 0,83 mm dlouhé	průměrně 1,68 mm dlouhé, významně delší než u druhu <i>V. reichenbachiana</i>
Rich & Jermy 1998	za květu i za plodu nanejvýš 1,5 mm dlouhé, za plodu se nezvětšující, u chasmogamických květů za plodu odstálé	za květu víc než 1,5 mm dlouhé, za plodu se zvětšující, u chasmogamických květů za plodu přitisklé
korunní lístky		
Kirschner & Skalický 1990	úzce obvejčité, úzké, dolní s ostruhou (12–)14–19(–20) mm dlouhé, postranní krátce vousaté, koruny modrofialové až fialové, vzácně lilákové až růžové	obvejčité, široké, dolní s ostruhou 16–25 mm dlouhé, postranní krátce vousaté, koruny bledě modré až bledě fialové
Karlsson & Marcussen 2010	červeno-fialové až modré, bělavé na bázi, velmi vzácně zcela bílé, korunní lístek s ostruhou mírně konkávní, bez ostruhy 11–15 × 5–8 mm dlouhý, 1,5–2,3krát tak dlouhý jako široký	fialové, bělavé na bázi, korunní lístek s ostruhou mírně konkávní, bez ostruhy 13–17 × 7,5–10 mm dlouhý, 1,4–2krát tak dlouhý jako široký
Valentine 1950		květy celkově větší a korunní lístky širší než u druhu <i>V. reichenbachiana</i>
Trees-Frick 1993	průměrná délka dolního korunního lístku 1,73 cm	průměrná délka dolního korunního lístku 2,22 cm, významně větší než u druhu <i>V. reichenbachiana</i>

Znak	<i>Viola reichenbachiana</i>	<i>Viola riviniana</i>
Rich & Jermy 1998	lilákové, dolní korunní lístek užší	„břidlicově modré“, dolní korunní lístek širší
ostruha		
Kirschner & Skalický 1990	tenká, nejvýš 2 mm silná, až 7 mm dlouhá, rovná až slabě dolů ohnutá, zaokrouhlená, sytě červenofialová	silná (až 3 mm) a až 6 mm dlouhá, rovná nebo slabě nahoru zahnutá, tupá, na konci sedlovitě vykrojená, špinavě až čistě bílá, vždy světlejší než koruna
Karlsson & Marcussen 2010	fialová nebo bílá, válcovitá, přímá, ostrá (špičatá), 4,5–6,5 × 2–3 mm dlouhá, 1,8–2,7krát dlouhá jako široká, 6–14krát delší než kališní přívěsky	bílá nebo vzácně fialová, široká, rovná nebo nahoru zahnutá, tupá, 5–7 × 3–4 mm dlouhá, 1,5–2krát tak dlouhá jako široká, 3–7krát delší kališní přívěsky
Valentine 1950	spíš užší a tmavě fialová	tlustší a světlejší (často téměř bílá)
Trees-Frick 1993	průměrná šířka 2,51 mm	průměrná šířka 3,60 mm
Rich & Jermy 1998	liláková, tmavší než korunní lístky, štíhlá, někdy na vrcholu slabě promáčkla	bílá až žlutá nebo bledě nachová, světlejší než korunní lístky, tlustá, poblíž vrcholu promáčkla nebo s rýhou
žilnatina dolního (mediálního) korunního lístku		
Karlsson & Marcussen 2010	bez nebo s několika nezřetelnými žilkami v hrdle (ústí koruny)	se dvěma až pěti zřetelnými žilkami v hrdle (ústí koruny)
Valentine 1950	žilky méně početné a omezené na střed korunního lístku	fialové žilky rozvětřující se a vyplňující střední část korunního lístku
Rich & Jermy 1998	žilky méně početné a omezené na střed korunního lístku	nachové žilky se větví a vyplňují bazální polovinu korunního lístku korunní lístek na bázi bílý, v horní polovině fialový
čnělka		
Kirschner & Skalický 1990	na vrcholu vousatá	lysá
Karlsson & Marcussen 2010	zahnutá, u vrcholu pokrytá papilami	zahnutá, u vrcholu pokrytá papilami
Valentine 1950		tlustší, zobánek méně výrazný a méně chlupatý než u <i>V. reichenbachiana</i>
tobolky a semena		
Kirschner & Skalický 1990	tobolky vejcovité, lysé, semena 1,9–2,4 mm dlouhá, 1,2–1,6 mm široká, světle hnědá	tobolky vejcovité, špičaté, tupě hranaté, lysé, semena 1,8–2,3 mm dlouhá, 1,2–1,5 mm široká, světle hnědá
Karlsson & Marcussen 2010	tobolky vejcovité, trojhranné, tupé, 7–10 mm dlouhé, lysé, vystřelující, semena 1,8–2,1 × 1–1,3 mm, bledá až světle hnědá	tobolky vejcovité, trojhranné, tupé, 8–12 mm dlouhé, lysé, vystřelující, semena 1,8–2,1 × 1,1–1,3 mm, bledá až světle hnědá
Valentine 1941		Semena 1,0–1,3 mg (subsp. minor), 1,4–2,05 mg („subsp. memorosa“)

Znak	<i>Viola reichenbachiana</i>	<i>Viola riviniana</i>
Valentine 1950	tobolky z chasmogamických květů a mezidruhově hybridizace 2,35 mg (1,7–2,8 mg) průměrně 11 semen v tobolce tobolky z kleistogamických květů 1,95 mg (1,8–2,2 mg) průměrně 11,5 semene v tobolce	Tobolky z chasmogamických květů a mezidruhově hybridizace 1,35 mg (1,2–1,54 mg) průměrně 22 semen v tobolce tobolky z kleistogamických květů 1,5 mg (1,4–1,6 mg) průměrně 19,5 semene v tobolce
Trees-Frick 1993	semena průměrně 2,3 mm dlouhá	semena průměrně 2 mm dlouhá

2.2. Areály druhů

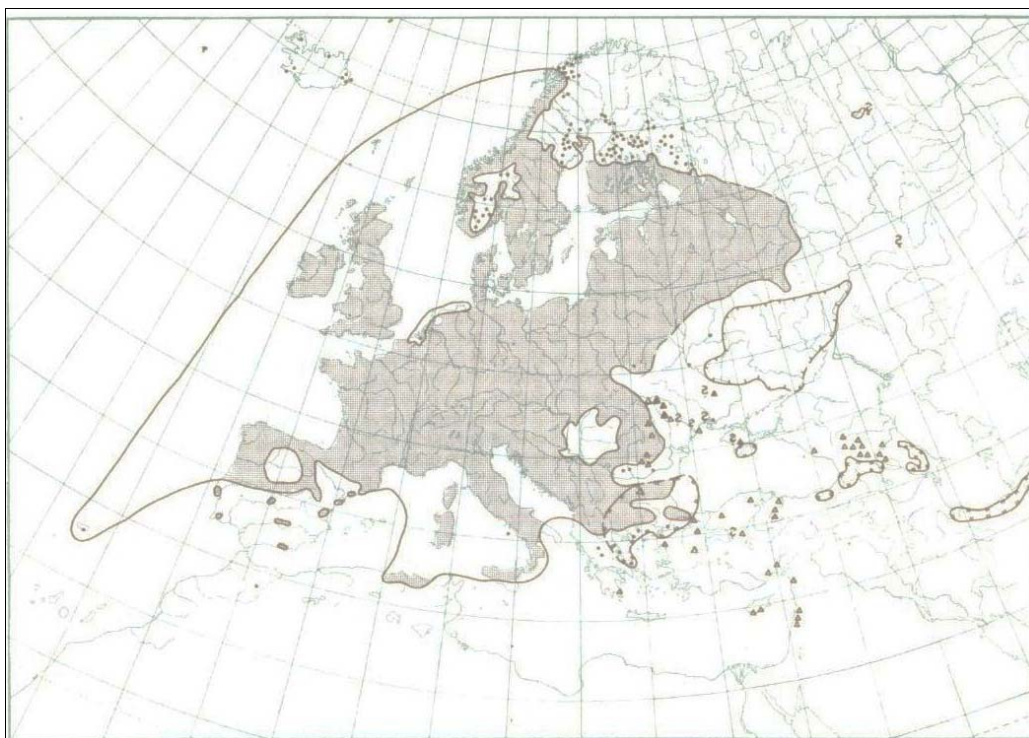
Oba druhy jsou převážně evropské a jejich areály se z velké části překrývají. Kromě jihovýchodní hranice zasahuje areál druhu *Viola riviniana* vždy dál než je tomu u druhu *V. reichenbachiana*. Nejsevernější výskyt violky lesní byl zaznamenán v jižním Švédsku, odtud směrem na západ hranice lemuje severní pobřeží Evropy a prochází souostrovím Velké Británie a Irska, kde ovšem nezasahuje do Skotska a Severního Irska (pouze vzácně). Směrem na jih zabírá areál celé území Francie, kromě bretaňského výběžku, zasahuje až do severního Španělska, odkud pokračuje jižní hranice přes Sardinii, Sicilii a Balkánský poloostrov. Východní cíp areálu druhu *V. reichenbachiana* se téměř dotýká Černého moře a přesahuje 35° východní délky (obr. 1). Viola Rivinova má hranice areálu o něco širší. Na severu zasahuje do Norska, až po souostroví Lofoty a směrem na západ zabírá celé souostroví Velké Británie a Irska. Západní hranice areálu prochází Atlantským oceánem až k ostrovu Madeira, odtud jižní hranice prochází středem Španělska, zasahuje do severní Afriky (s. Alžírsko) a na východě se dotýká poledníku 45° (obr. 2).

2.3. Variabilita druhu *Viola riviniana*

Především při práci v terénu činí rozlišování obou druhů velké obtíže. violka lesní je autory považována za poměrně dobře vymezený, málo variabilní druh (Kirschner & Skalický 1990: 407). Naproti tomu violku Rivinovu většina autorů považuje za druh velmi proměnlivý (Kirschner & Skalický 1990: 408, Valentine 1941, Karlsson et al. 2009). Variabilita se projevuje především ve velikosti, tvaru a zbarvení květů a jejich částí, z nichž velká pozornost bývá nejčastěji věnována barvě a vykrojení ostruhy a mediánnímu korunnímu lístku, kde se nejvíce sleduje jeho zbarvení a žilnatina, která může přecházet od málo čitelných, chudě větvených žilek až po ostře od okolí rozlišenou a bohatě větvenou síť. Barva korunních lístků bývá popisována ve všech odstínech fialové, od téměř bílé, růžové a světle modré, po sytě fialovou a červenofialovou. Přechodné morfotypy jsou zčásti téměř sterilní primární kříženci *V. riviniana* × *V. reichenbachiana* ($2n = 30$; Valentine 1950, Christensen 2002), část



Obr. 1: Celkový areál druhu *Viola reichenbachiana* (Meusel 1978)



Obr. 2: Celkový areál druhu *Viola riviniana* (Meusel 1978)

jedinců přechodného morfotypu je ale plně fertilní (Valentine 1950). Pro tuto variabilitu druhu *Viola riviniana* existuje dvojí vysvětlení. První hypotéza říká, že velká proměnlivost violky Rivinovy je v důsledku alopolyploidního původu, příp. menší ekologické vyhraněnosti. Podle druhé hypotézy je větší morfologická variabilita druhu *V. riviniana* důsledkem introgrese, tedy zpětného křížení primárních kříženců s jejich rodiči, především s druhem *V. riviniana* (Valentine 1941, 1950, Fischer & Karrer 2005: 432).

První hypotézu o velké morfologické variabilitě violky Rivinovy potvrdil Valentine (1941), který se její proměnlivostí podrobně zabýval na území Britského souostroví. Zaznamenal dva morfologicky a ekologicky odlišné typy, dále klasifikované na úrovni poddruhů, a to lesní, zřejmě častější ekotyp *Viola riviniana* subsp. *nemorosa* (správně *V. riviniana* subsp. *riviniana*), vyznačující se podstatně většími listy, dlouhými květními stopkami a mohutnějšími květy, a ekotyp otevřených stanovišť *V. riviniana* subsp. *minor* (Greg., Valentine), popisovaný jako celkově menší rostlina, někdy pro své malé listy i květy a kratší květní stopky označovaný jako trpasličí forma druhu *V. riviniana*. Rovněž korunní i kališní lístky jsou užší a žilnatina na dolním korunním lístku není příliš výrazná (Valentine 1941). I mezi zmíněnými dvěma poddruhy se objevují přechodné morfotypy, které ještě ztěžují determinaci druhů. Valentine (1941) tyto morfotypy označil jako *V. riviniana* f. *intermedia* (viz též Gadella 1962). Kromě Britského souostroví byly rostliny podobné poddruhům *V. riviniana* subsp. *nemorosa* a *V. riviniana* subsp. *minor* nalezeny také na území dalších států, např. v České republice (Kirschner & Skalický 1990) a Rakousku (Fischer & Karrer 2005:432).

2.4. Hybridizace druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana*

Viola reichenbachiana a *Viola riviniana* jsou lesní druhy, které často sdílejí společnou lokalitu. Populace těchto druhů často doprovázejí jejich kříženci (Kirschner & Skalický 1990: 407–408, 428–429, Jäger & Werner 2002: 244, Fischer & Karrer 2005: 432). Křížence lze popsat jako přechodné morfotypy mezi rodičovskými druhy a pokud je nalezneme na stanovišti společně s rodiči, dají se dobře odlišit, ale jednotlivé rostliny nebo herbářové doklady se často určují jako druh *V. riviniana* (Valentine 1950).

Valentine se také zabýval pokusy s umělým křížením obou druhů a popisem kříženců. Rostliny pěstoval ve skleníku v chladném prostředí a bez přístupu hmyzu a pyl přenášel sterilní jehlou. Výslední kříženci vykazovali jednotnost ve velikosti i tvaru, kterou Valentine vysvětloval existencí inbreedingu, který probíhá u obou rodičů díky kleistogamickým květům. Kříženci byli celkově větší než oba rodičovské druhy a v morfologických znacích se buď podobali druhu *Viola riviniana*, nebo byli intermediární, tedy hodnota daných znaků se

pohybovala mezi hodnotami rodičů. Intermediární byla délka kališních lístků, šířka korunních lístků a barva ostruhy. Tvar ostruhy, charakter žilnatiny na dolním korunním lístku a celkový tvar a velikost květů se spíše podobají druhu *V. riviniana*, ale zobánek na čnělce je jako jediný znak více podobný druhu *V. reichenbachiana* (Valentine 1950).

S pokusy s umělým křížením souvisejí také Valentinovy pokusy se semeny. Přestože semena rostlin vypěstovaných ve skleníku byla klíčivá pouze z 25 %, podle hmotnosti se dalo usoudit, že jsou životaschopná a Valentinovi se podařilo vypěstovat několik rostlin první generace. Na nich pak prováděl pokusy se zpětným křížením s rodiči. Počet chromozomů kříženců je $2n = 30$ (tab. 3), což je příčinou jejich značné sterility. Počet vytvořených semen u kříženců je velmi nízký a semeník po opylení květu rychle vadne. Předpokládá se tedy, že při zpětném křížení proběhne oplození, ale embryo ani endosperm nejsou životaschopné (Valentine 1950). Při zpětném křížení většina květů rychle zvadla, ale několik rostlin vytvořilo tobolky s jedním, nejvýš dvěma semeny. Z citované práce nelze usoudit, jestli autor tato semena dále klíčil. Snažil se také vypěstovat rostliny generace F2 ze semen vytvořených v tobolkách kleistogamického původu. Část těchto potomků byla slabá a brzy uhynula, část byla dobře vyvinutá a bohatě kvetla. Některé rostliny dokonce vytvořily semena v tobolkách vzniklých z kleistogamických květů, klíčivá však byla semena jen z jedné rostliny (Valentine 1950).

Valentine (1950) se dále zabýval, redukčním dělením křížence. U druhu *Viola reichenbachiana* ($2n = 20$) vzniká 10 bivalentů, u druhu *V. riviniana* ($2n = 40$) vzniká 20 bivalentů (Fothergill 1944). Ve Valentinových pokusech vzniklo ve 26 z 41 případů 10 bivalentů. Pravděpodobně se párovaly všechny chromozomy druhu *V. reichenbachiana* s polovinou homologních chromozomů druhu *V. riviniana*. Druhá polovina chromozomů tvořila univalenty (Valentine 1949). Toto pozorování se stalo základem hypotézy, podle níž je *V. riviniana* alopolyploidní druh, který v sobě obsahuje ancestrální genom dnešního druhu *V. reichenbachiana* a další genom zatím blíže neznámého druhu (Valentine 1949). Pozdější studie o meiotickém párování (Moore & Harvey 1961, van den Hof et al. 2008) ukázaly, že tento genom se pravděpodobně podílel také na vzniku alotetraploidního druhu *Viola canina*.

V metafázi mitotického dělení měřil Fothergill (1944) délku chromozomů. Bylo zjištěno, že u violky lesní je jeden pár znatelně delší a u violky Rivinovy naopak znatelně kratší než ostatní chromozomy. Fothergill (1944) proto navrhl vzorec $B + 9C$ pro haploidní sadu druhu *V. reichenbachiana* a $19C + D$ pro haploidní sadu druhu *V. riviniana* (dnes již nepoužívané vzorce).

Nakonec se Valentine (1950) věnoval pokusům s tvorbou pylu u kříženců generace F1. Zvolil metodu vitálního barvení acetokarmínem a přímého počítání pylových zrn. Nejčastěji

se tvořily tetrády se čtyřmi nebo šesti pylovými zrny. Čtyři zrna jsou pravděpodobně odvozena z bivalentů a obsahují genetický materiál druhu *Viola reichenbachiana* a polovinu genomu *V. riviniana*, další dvě zrna jsou pak vytvořena z univalentů a obsahují druhou polovinu genomu druhu *V. riviniana*. Tento stav vznikl asi v polovině případů, ale často se tvořily i skupiny s jiným počtem pylových zrn (2–3, 5–7). Velmi drobná pylová zrna s jedním nebo dvěma chromozomy nebyla do tohoto počtu zahrnuta. Z celkového počtu 854 pylových zrn jich bylo 225, tedy 26 %, životaschopných (tj. dobře probarvených).

2.5. Diskuse k literární rešerši

Při charakteristice druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana* se řada autorů (např. Kirschner & Skalický 1990) často zmiňuje o výskytu mezidruhových kříženců, kteří se zpětně kříží s rodiči, vznikají celé hybridní roje a dochází k introgresi a postupnému vymizení čistých druhů. Pokusy, které prováděl Valentine (1941, 1949, 1950) však ukazují pravý opak, totiž že ke zpětnému křížení pravděpodobně nedochází nebo jen ve velmi malé míře. Semen kříženců první generace se vytváří velmi málo, procento jejich klíčivosti je nízké a pylová zrna rovněž vykazují malou životaschopnost.

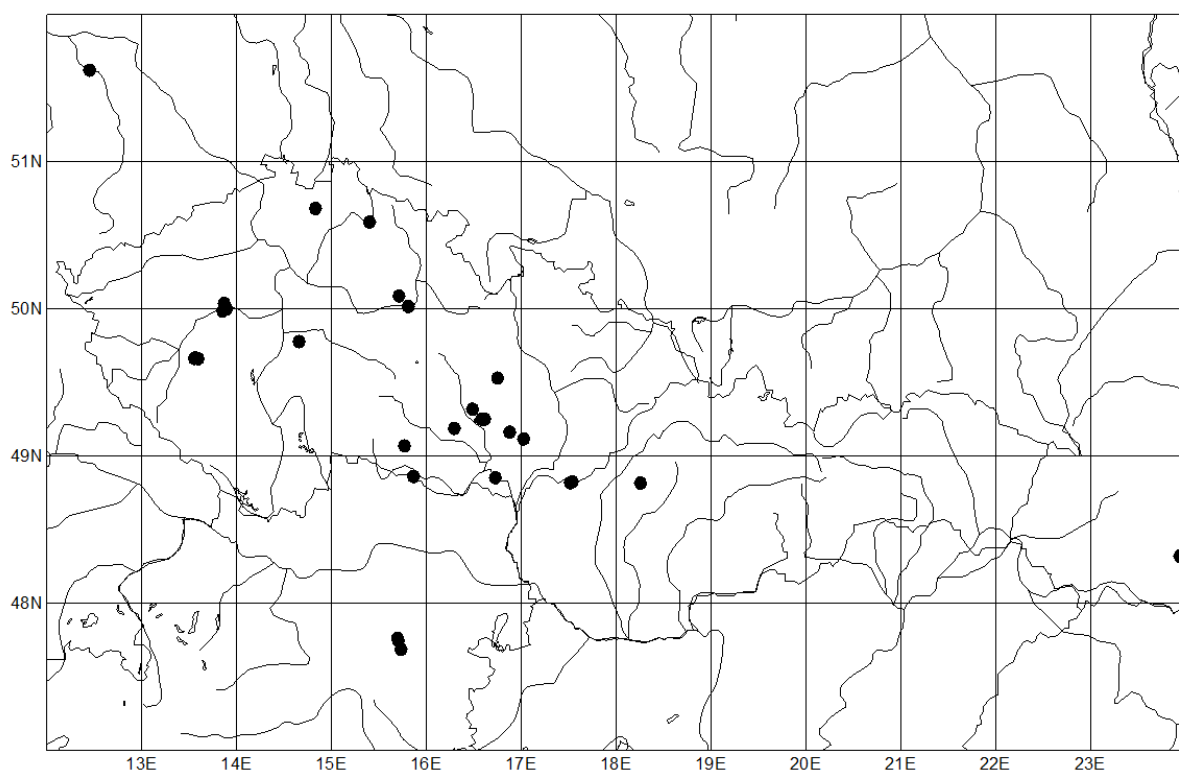
Tabulka 3. Počty chromozomů a ploidní úroveň druhů *Viola reichenbachiana*, *V. riviniana* a jejich kříženců podle literatury

	<i>V. reichenbachiana</i>	<i>V. riviniana</i>	<i>V. reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>
Valentine 1941	2n = 20	2n = 40 (<i>V. riviniana</i> subsp. <i>minor</i> ; Anglie) 2n = 46 [= 40A + 6B] (<i>V. riviniana</i> subsp. <i>nemorosa</i> ; Anglie)	2n = 30 2n = 34 [= 30A + 4B]
Fothergill 1944	2n = 20 (1 rostlina, North Hampshire, Anglie)	2n = 40 (1 rostlina, Durham, Anglie)	
Tischler 1950 sec. Dobeš & Vitek 2000	2n = 20 (Rakousko)		
Valentine 1950	n = 20 (Anglie?)	2n = 40A + (0–)6–7B (Anglie)	2n = 30
Schöfer 1954	2n = 20 (<i>V. silvestris</i> ; Německo, Bavorsko, 5 populací)	2n = 40 (<i>V. riviniana</i> ; Německo, Bavorsko, 3 populace)	2n = 30 (<i>V. silvestris</i> + <i>riviniana</i> ; Německo, Bavorsko, 3 populace, celkem 65 rostlin)
Gadella 1963	2n = 20 (Nizozemí, Belgie, Německo, 11 populací)	2n = 35 (Nizozemí, prov. Limburg, 3 populace) 2n = 40 (Nizozemí, Německo, Belgie, 25 populací) 2n = 40A + 5–7B (Nizozemí, Německo, 7 populací)	
Kirschner & Skalický 1990	2n = 20 (fyt. okr. 76a. Moravská brána vlastní)	2n = 40 (fyt. okr. 8. Český kras)	
Trees-Frick 1993	2n = 20 (Švýcarsko, Kanton Bern, 14 populací)	2n = 40 (Švýcarsko, Kanton Bern, 12 populací)	2n = 30 (Švýcarsko, Kanton Bern, 12 populací)
Harmaja 2003		2n = ca 30 (3×), 2n = 30 (1×), 2n = 40 (1×; vše jižní Finsko)	
Mered'a jun. et al. in Mráz 2006	2n = 20 (Slovensko, Košice; uvádí znovu Marhold et al. 2007)	2n = 40 nebo 2n ~ 8x ~ 40 (Slovensko, 3 lokality, uvádí znovu Marhold et al. 2007)	2n ~ 6x ~ 30 (Slovensko, 5 lokalit, uvádí znovu Marhold et al. 2007)
Marhold et al. 2007	2n = 20 (Slovensko; 3 lokality) 2n = 40 (Slovensko, Nová Sedlice) – velmi pravděpodobně mylný údaj	2n = 40 (Slovensko, 2 lokality) (Slovensko, 2 lokality)	2n = 30 (Slovensko, 5 lokalit)
Karlsson & Marcussen 2009	2n = 20 (Dánsko, Sjælland; Finsko, Åland; Švédsko, Skåne)	2n = 35–40 (Finsko, Åland) 2n = 40 (Finsko, Etelä-Häme; Dánsko, Sjælland)	

3. Metodika práce

3.1. Sběr rostlin

Abych mohla odebírat jednotlivé části rostlin a měřit morfologické znaky, bylo třeba získat populační vzorky z přírody. Podařilo se nasbírat 290 rostlin, a to 42 populací z různých částí České republiky a 10 populací z dalších zemí Evropy. Sebrané populační vzorky byly od sebe vzdálené alespoň 5 m, abych měla jistotu, že se nejedná o týž klon. Z každé populace jsem vybrala (1–)6(–17) živých rostlin ke kultivaci a z několika dalších jedinců jsem pořídila herbářový doklad. Zároveň byla vytvořena databáze s kódem každé rostliny, její předběžnou determinací, údaji o lokalitě, včetně nadmořské výšky, zeměpisných souřadnic, datem sběru a jménem sběratele (viz přílohu 1). Obr. 3 znázorňuje všechny lokality v ČR a některé ze sousedních zemí Evropy. Pro větší přehlednost mapky nejsou vzdálenější lokality zobrazeny.



Obr. 3: Lokality pěstovaných violek *Viola reichenbachiana*, *V. riviniana* a kříženců *V. reichenbachiana* × *V. riviniana*

3.2. Kultivace

Vybrané jedince z každé populace jsem zasadila do květináčů s běžnou zahradní směsí hlíny a zapustila je do půdy, vždy čtyři řady po dvanácti rostlinách. Každý květináč byl opatřen plastovou jmenovkou s kódem, jménem (pokud byla možná předběžná determinace) a přibližnou lokalitou. Tyto údaje jsem napsala na oba konce jmenovky, kdyby se nadzemní část ulomila. Záhonky jsem založila v areálu Ústavu botaniky a zoologie Masarykovy univerzity v Brně-Řečkovících, za budovou č. 10, kde se držel stín nejdelší část dne (obr. 4). I přesto bylo potřeba rostlinám zhotovit stínítka z latěk a sítě se 75% zastíněním, která jsem podepřela ocelovou tyčovinou. Záhonky bylo nutné zalévat.

Kultivace rostlin je nutná, aby bylo možné odebírat jejich nadzemní části pro morfologické analýzy, ale především je nezbytná pro získání kořenových špiček, k počítání chromozomů, a mladých lístků potřebných k průtokové cytometrii. Ani po několika letech pěstování se rostliny nijak výrazně nelišily od jedinců z přírody (obr. 5).



Obr. 4: Kultivace rostlin v areálu Ústavu botaniky a zoologie v Brně-Řečkovících

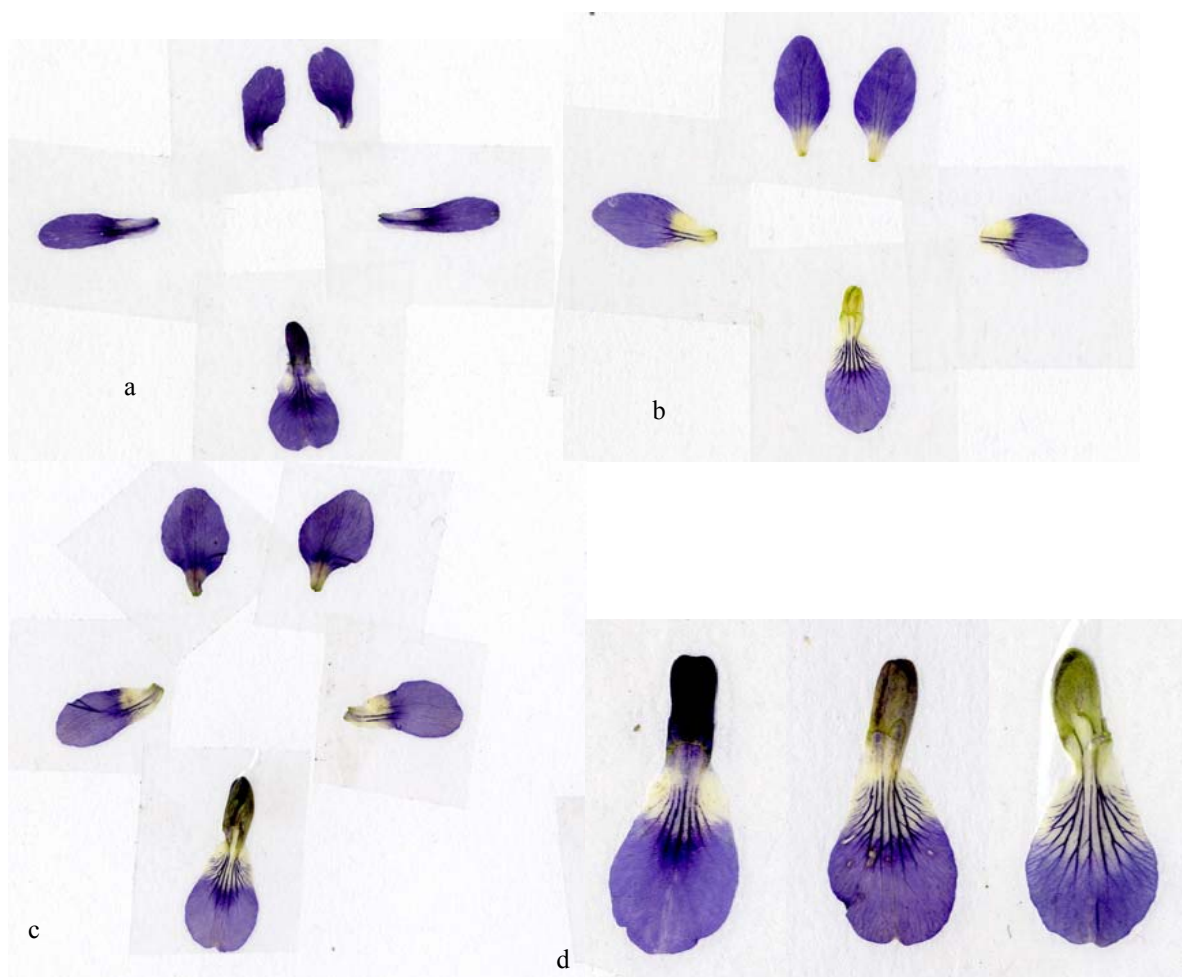


Obr. 5: Rostliny pěstované v kultuře: (a) *Viola reichenbachiana* (rostlina V05/5); (b) *V. riviniana* (rostlina V38/1); (c) *V. reichenbachiana* × *V. riviniana* (rostlina V22/15)

3.3. Odběr květů

Pro morfologickou analýzu květních částí bylo potřeba odebrat z pěstovaných rostlin reprezentativní vzorky květů. Pomocí preparačních jehel jsem oddělila jednotlivé korunní i kališní lístky, prašníky a čnělku z čerstvých květů. U kališních lístků jsem vždy označila mediánní lístek, tj. ten, který leží v mediánní ose proti dolnímu korunnímu lístku. Části květů jsem lepila průhlednou lepicí páskou na polokarton formátu A4 (obr. 6) a sušila je jako běžné herbářové doklady. Takto vyrobené položky bylo potřeba co nejdříve naskenovat, neboť po usušení se rychle vytrácí barva z korunních lístků, což by znemožnilo případné hodnocení barevných odstínů.

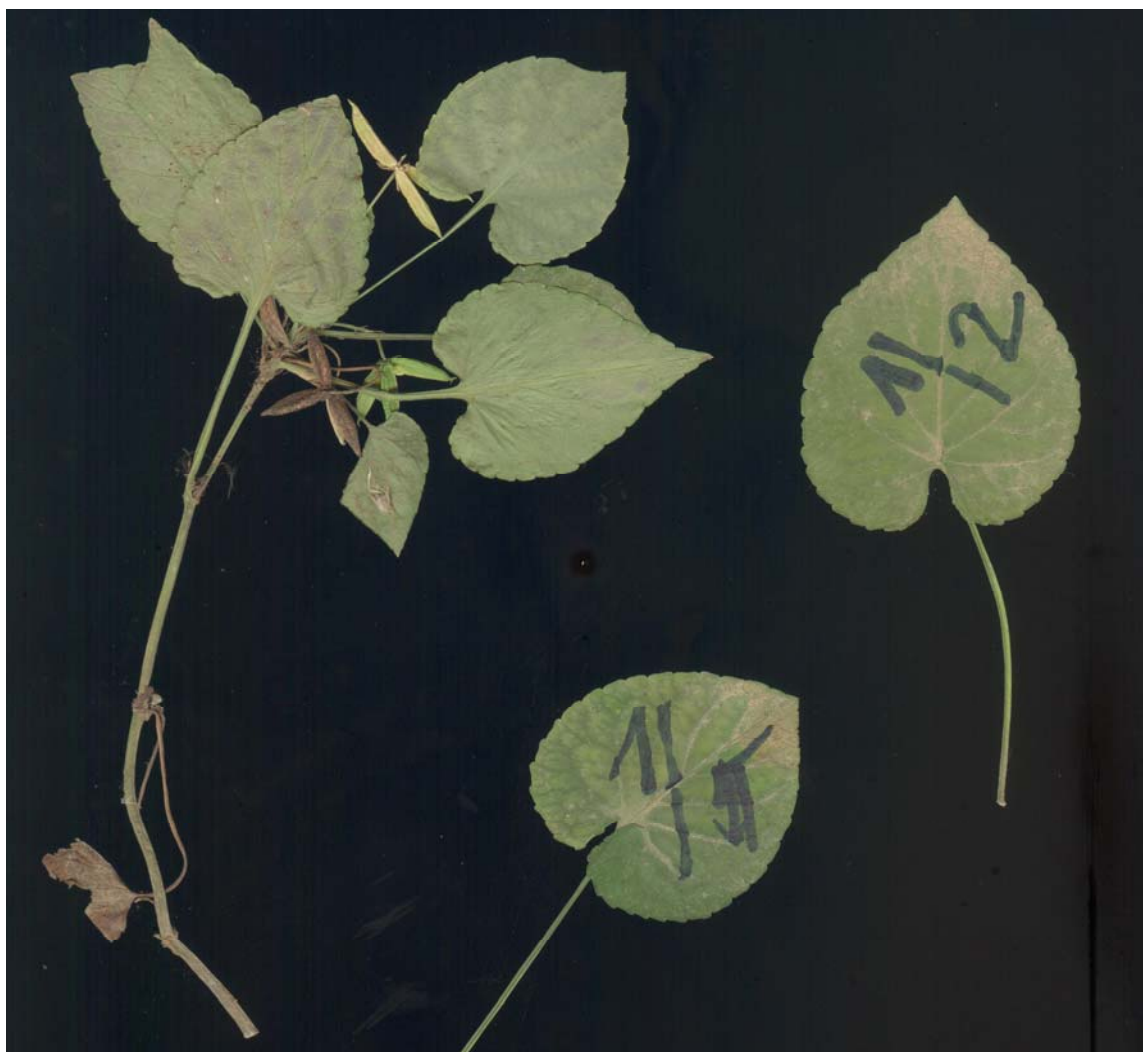
Preparace a lepení květů je nutná pro přesné určení rozměrů jednotlivých částí, nelze ji tedy nahradit herbářovými doklady. V těch jsou květy usušené v nevhodné poloze a není možné jednoznačně určit začátek nebo konec měřených částí.



Obr. 6: Nalepené a naskenované květy: (a) *Viola reichenbachiana* (rostlina V05/1); (b) *V. riviniana* (rostlina V02/3); (c) *V. reichenbachiana* × *V. riviniana* (rostlina V39/1); (d) srovnání dolních korunních lístků s důležitými znaky – zleva: *V. reichenbachiana* (rostlina 17/2), *V. reichenbachiana* × *V. riviniana* (rostlina 09/4), *V. riviniana* (rostlina 56/2)

3.4. Odběr listů

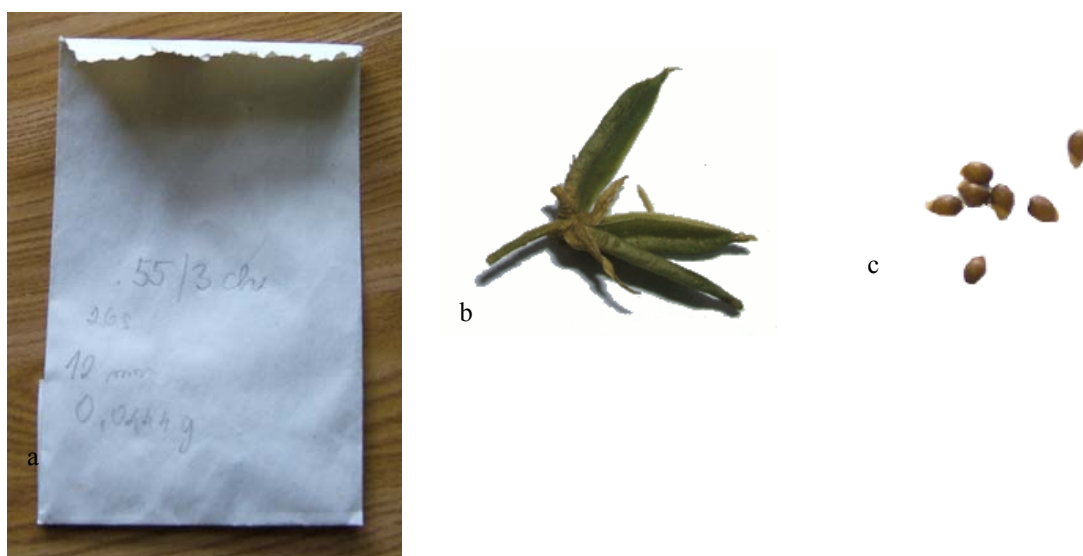
V druhé polovině srpna jsem z každé rostliny odebrala lodyhu sněkolika listy a několik listů přízemní růžice. Dřívější odběr by zmenšil asimilační plochu rostliny a mohl by mít negativní vliv na vývoj tobolek a semen. Vždy jsem odebrala alespoň dva lodyžní listy a dva listy přízemní růžice. U těch jedinců, kteří byli napadeni rzí a měli suché nebo zdeformované listy, jsem reprezentativní vzorek neodebrala. Ostatní sebrané listy jsem popisovala fixem, aby nedošlo k záměně během sušení, a lisovala je jako herbářové doklady. Usušené jsem je pak skenovala, a to při otevřeném skeneru. Tak vzniklo černé pozadí a obrys listů byl jasně vymezen. Při zavřeném skeneru by se na bílém pozadí mohly vytvořit stíny, které by zkreslovaly tvar a rozměry listů.



Obr. 7: Skeny listů druhu *Viola reichenbachiana* (rostlina V01/2)

3.5. Odběr plodů

Pro měření a hodnocení znaků na plodech bylo potřeba odebírat zralé tobolek. U většiny jedinců jsem odebrala dvě tobolek vzniklé z chasmogamických květů a dvě vzniklé z květů kleistogamických. Abych měla jistotu o původu tobolek označila jsem již v době kvetení květní stopky asi centimetr dlouhým kouskem prostřížené barevné slánky. Tobolky označené slánkou pak byly chasmogamické, neoznačené tobolek, které navíc dozrávají mnohem později, byly kleistogamické. Odebrané tobolek jsem každou zvlášť vkládala do papírových sáčků (obr. 8), které jsem popsala a uskladnila v herbáři Ústavu botaniky a zoologie.

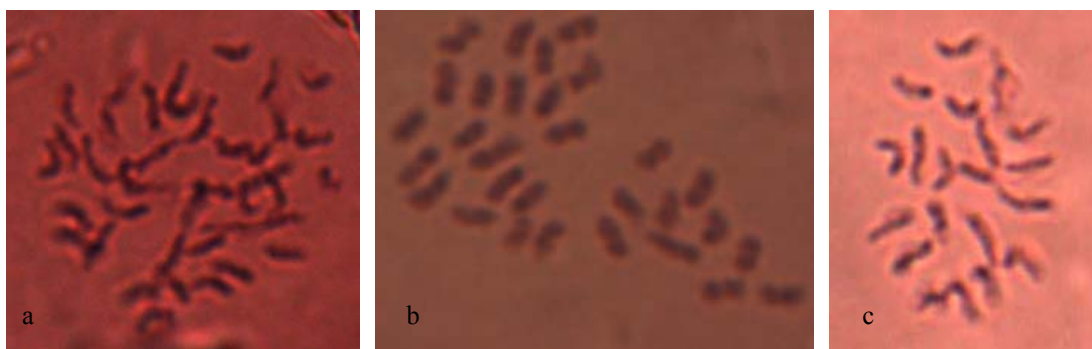


Obr. 8: Tobolky se semeny: (a) papírový sáček s uskladněnými semeny; (b) detail otevřené tobolek (rostlina 55/3); (c) detail zralých semen, *V. riviniana* (rostlina V14/1)

3.6. Počítání chromozomů

Abych měla jistotu o správném určení druhů, a především kříženců, bylo nutné počítat chromozomy. Zvolila jsem tzv. rychlou cytologickou metodu (Pazourková & Pazourek 1960), která má tři fáze: (1) předpůsobení, (2) fixace a (3) macerace. V první fázi se v buňkách ve stadiu metafáze rozruší dělicí vřeténko a dělení buňky se zastaví. Zvětší se tak počet metafázních buněk, chromozomy se zkrátí a počítání je snazší. Ve fázi fixace dochází k rychlému usmrcení rostlinného pletiva, aniž by se poškodila struktura chromozomů. Nakonec se macerací rozruší střední lamela, která spojuje buňky.

Postup: Kořenové špičky dlouhé 2–3 cm uřízneme a vložíme do paradichlorbenzenu. Nejvhodnější doba odběru je kolem osmé hodiny ranní, kdy je dělení buněk nejintenzivnější. Po dvou až čtyřech hodinách kořínky přemístíme do směsi 96% etanolu a ledové kyseliny octové v poměru 3 : 1 a necháme je v ledničce několik hodin, nejlépe do druhého dne. Potom kořínky ponoříme do macerační směsi 96% etanolu a koncentrované kyseliny chlorovodíkové v poměru 1 : 1. Macerujeme 1–2 minuty a stejně dlouho kořínky oplachujeme v destilované vodě. Následuje barvení. Z kořínků odřízneme asi 1 mm dlouhou kořenovou špičku, přidáme kapku barviva lakto-propion-orcein a pod krycím sklíčkem objekt roztlačíme tupým koncem preparační jehly, příp. tužky. Pro lepší probarvení se doporučuje udržovat barvivo v chladu nebo preparáty připravené k pozorování skladovat přes noc v chladničce, kde vydrží i několik týdnů bez vyschnutí. Probarvený preparát můžeme pozorovat pod mikroskopem, případně si zaznamenávat souřadnice polohy metafázních buněk. Rod *Viola* má velmi malé chromozomy, proto je nejvhodnější zvětšení 100× s použitím imerzního oleje. Pro snadnější počítání jsem používala mikroskop s kamerou, připojený k počítači, kde jsem pracovala v programu Cell[^]B. Ten umožňuje pozorování objektu na monitoru počítače, jejich fotografování, zvětšení i samotné počítání (obr. 9). I přes to je počítání chromozomů u violek velmi obtížné a zdoluhavé a často je potřeba zhotovit více preparátů z jedné rostliny. Celkem se mi podařilo určit chromozomový počet u 48 jedinců. Jejich přehled je uveden v tabulce přílohy 2.



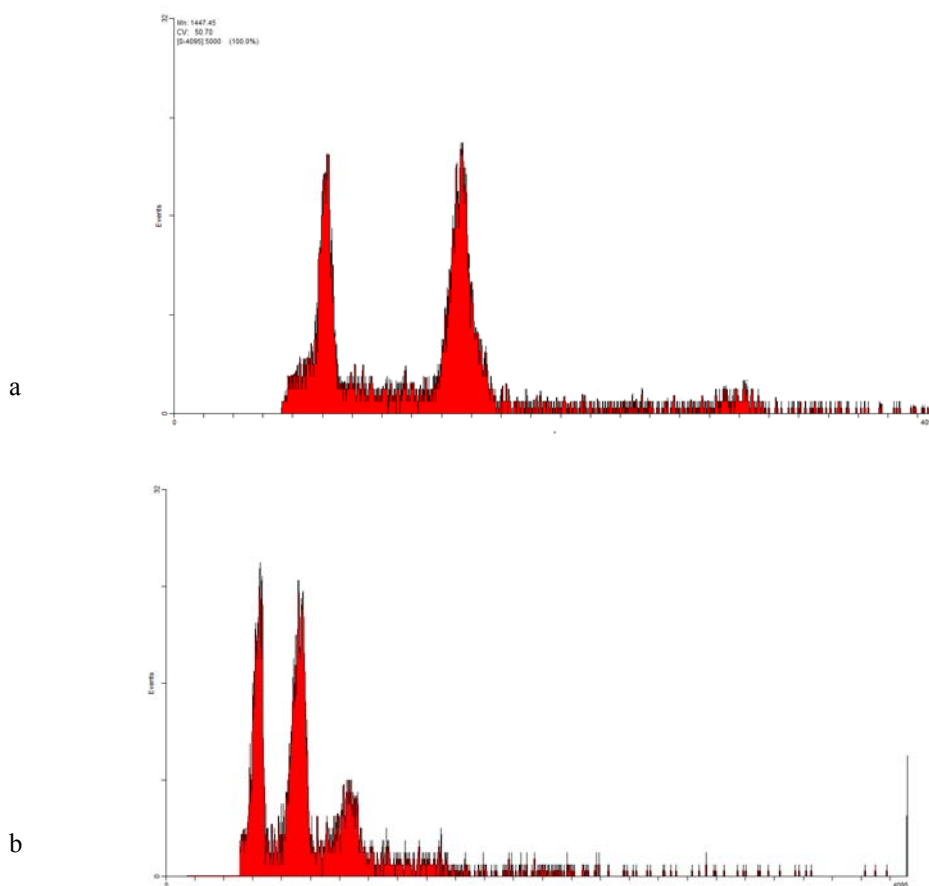
Obr. 9: Fotografie chromozomů v programu Cell[^]B; (a) $2n = 40$, *Viola riviniana* (rostlina V04/1), (b) $2n = 30$, *V. reichenbachiana* × *V. riviniana* (rostlina 37/2), (c) $2n = 20$, *V. reichenbachiana* (rostlina 06/1)

3.7. Průtoková cytometrie

Další možností, jak s určitostí zjistit ploidní úroveň daného jedince, je průtoková cytometrie. Oproti počítání chromozomů je mnohonásobně rychlejší jak postup měření, tak i příprava vzorků. Nevýhodou při práci s violkami je velký obsah slizů v pletivech, které měření značně ztěžují. Proto je nutné odebírat pouze velmi mladé listy (do 1 cm).

Cytometrická měření jsem prováděla zjednodušenou dvoukrokovou metodou (simplified two-step procedure), verze B, popsanou na internetových stránkách Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky (<http://lmcc.ieb.cz/book/simplified-two-step-procedure>, Otto 1990). V Petriho misce nasekáme malé množství rostlinného materiálu novou ostrou žiletkou v 0,5 ml ledového pufru Otto I. Přidáme 0,5 ml pufru Otto I a promícháme pipetou. Suspenzi filtrujeme přes nylonový filtr (42 µm). Přidáme 2 ml pufru Otto II společně s barvivem DAPI (případně propidium jodid). Před vlastním měřením necháme směs několik minut stát v pokojové teplotě.

Při měření absolutní velikosti genomu je nutné provést postup dvakrát pro každý vzorek, do jedné zkumavky přidat barvivo DAPI a do druhé propidium iodid. Mně stačilo znát pouze ploidii daného jedince s použitím DAPI, takže měření bylo rychlejší. Jako standard, u kterého je relativní velikost genomu známa, jsem používala sóju (*Glycine max*) a později i jedince violek, u nichž jsem přesný počet chromozomů zjistila počítáním (obr. 10). Celkem jsem zjistila ploidní úroveň u 137 jedinců, jejichž přehled je v tabulce přílohy 2.



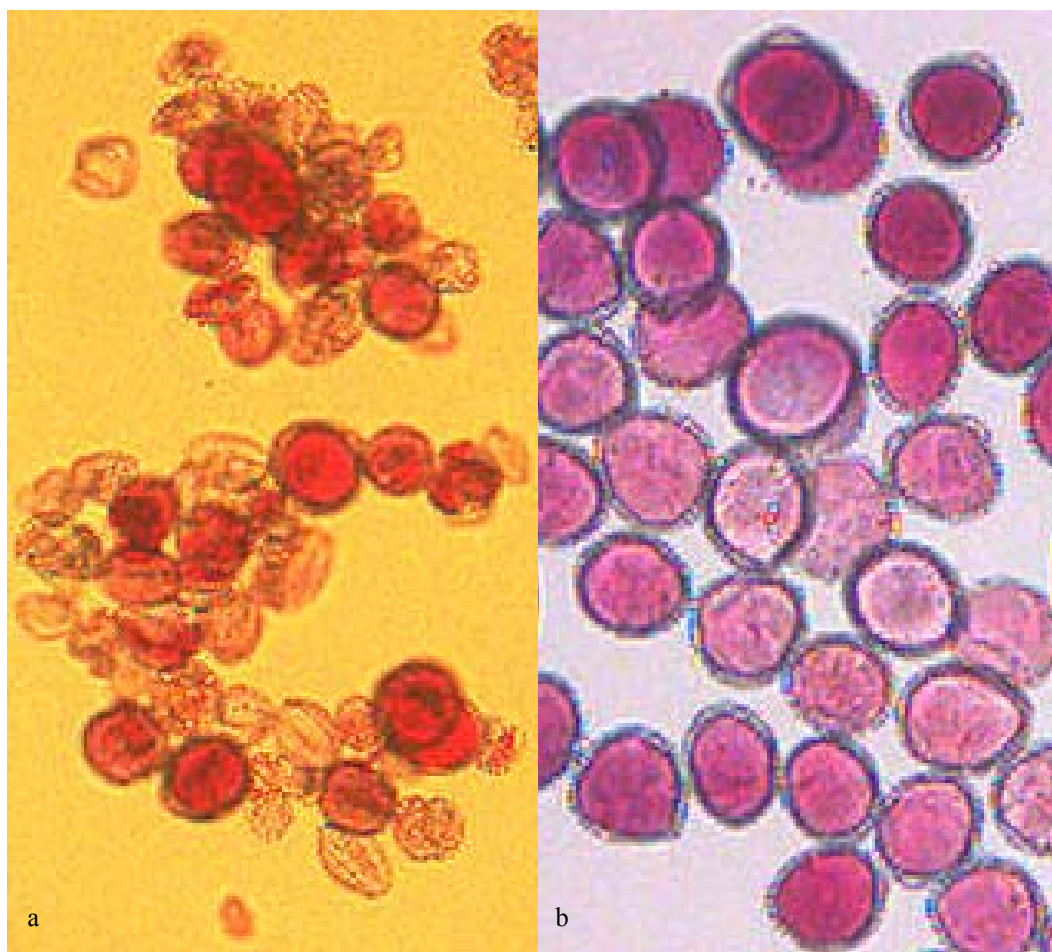
Obr. 10: Grafy znázorňující ploidie rostlin v programu WinMDI; (a) diploid a tetraploid, *Viola reichenbachiana* (rostlina 01/6), *V. riviniana* (rostlina V04/2); (b) diploid a triploid, *Viola reichenbachiana* (rostlina 01/2), *V. reichenbachiana* × *V. riviniana* (rostlina V08/5)

3.8. Barvení pylových zrn

Pro zhodnocení pylové životaschopnosti bylo třeba barvit pylová zrna. Nejpřesnější test viability je schopnost pylu oplození a následné tvorby semen (Dafni et al. 2000). Všechny typy testů barvení jsou pouze náhradní a jejich výsledky se mohou od skutečnosti značně lišit. Pro barvení pylových zrn jsem zvolila Alexandrovo barvení (Dafni 1992). Tato metoda je relativně rychlá, jednoduchá a velmi vhodná k barvení čerstvých, nefixovaných pylových zrn. Hlavní složky Alexandrova činidla jsou etanol, malachitová zeleň, destilovaná voda, glycerol, fenol, fuchsin, chloralhydrát, oranž a ledová kyselina octová.

Pod binokulárním mikroskopem pomocí preparačních jehel vypreparujeme z neotevřených květů prašníky. Jejich obsah vysypeme na podložní sklíčko a zakápneme Alexandrovým činidlem. Po rozptýlení pylových zrn v barvivu je přikryjeme krycím sklíčkem. Nejlépe je nechat pylová zrna probarvovat dvě hodiny ve tmě při teplotě 40–50 °C. Přirozenému vysychání barviva zabráníme uložením preparátů do zavřené Petriho misky na vlhký filtrační papír. U rodu *Viola* se pylová zrna probarvila po velmi krátké době a bez použití inkubátoru.

Preparáty s pylovými zrny jsem pozorovala pod mikroskopem při zvětšení 10 × 20 a 10 × 40. Připojení mikroskopu k počítači umožňovalo fotografování preparátů, a tak usnadňovalo počítání pylových zrn. Od každého jedince jsem počítala alespoň 100 pylových zrn. Probarvená pylová zrna jsem považovala za životaschopná, neprobarvená nebo deformovaná zrna za mrtvá (obr. 11). Může však nastat případ, že pylové zrno vyhodnocené jako mrtvé v laboratorních podmínkách by v přírodě dalo vznik životaschopnému semeni (Konečný 2007). Výslednou viabilitu jsem vyjádřila v procentech.



Obr. 11: Fotografie pylových zrn v programu Cell^B; (a) převážně neživotaschopná pylová zrna, *Viola reichenbachiana* × *V. riviniana* (rostlina 03/1); (b) životaschopná pylová zrna, *V. riviniana* (rostlina V02/3)

3.9. Výběr a měření morfologických znaků

Pro budoucí morfologické analýzy bylo nutné zvolit vhodné znaky, které by prokázaly rozdíl mezi druhy a jejich kříženci. Zaměřila jsem se nejen na znaky často zmiňované ve floristické literatuře, které se týkají především květů, ale také na znaky v literatuře opomíjené nebo považované za neinformativní, případně stejně variabilní, jako jsou na plodech a semenech. Na listech jsem měřila jednak ty znaky, které uvádí literatura, a jednak ty, které by podle observační hypotézy mohly přispět k vymezení obou druhů. Celkem jsem tedy měřila 25 morfologických znaků (tab. 4).

Na květech jsem měřila délku a šířku všech korunních lístků. U párových korunních lístků jsem vypočítala průměrnou hodnotu. Na mediálním kališním lístku jsem také měřila délku ostruhy a vzdálenost nejširšího místa od okraje lístku. Na listech byla měřena délka čepele, šířka v nejširším místě, vzdálenost nejširšího místa od špičky listu a konce čepele, hloubka zářezu listu a vzdálenost dvou "laloků" na spodní části listové čepele. Od každého jedince jsem z naskenovaných obrázků vybrala vždy dva lodyžní listy a dva listy růžice.

Sledovala jsem také pozici měřených listů na lodyze. Koncem léta se lodyhy tzv. vytahují a listy na vrcholku jsou výrazně menší. Proto jsem, pokud to bylo možné, měřila první dva listy těsně pod vrcholem lodyhy, případně listy v její spodní části.

Rozměry plodů, tedy délku chlopně tobolky, jsem měřila běžným školním pravítkem. Semena jsem vážila na laboratorních vahách s přesností na desetitisíciny gramu. Vždy jsem vážila všechna semena najednou a vypočítala průměrnou hmotnost jednoho semene. Rozlišovala jsem tobolky vzniklé z chasmogamických a kleistgamických květů.

Rozměry vybraných znaků na květech a listech jsem měřila v programu Cell^B, do nějž jsem převedla naskenované květy a listy. Pro stanovení délek jsem zvolila funkci *arbitrary distance* a pro počítání žilek funkci *touch count*. Počítání žilek je do jisté míry subjektivní, ale pokud jde pouze o relativní rozdíl mezi dvěma druhy, není přesný počet tak důležitý. Všechny zaznamenané hodnoty v programu Cell^B lze převést do tabulky programu Microsoft Excell a dále s nimi pracovat (příloha CD). Obrázky listů jsem převedla také do programu Gimp 2.6. Od každého druhu jsem vybrala všechny typy tvaru listů a všechny tvary zářezu a špičky čepele. Barvu listů jsem převedla na černou (obr. 30). Opět jsem rozlišovala lodyžní listy a listy růžice.

Tab. 4: Přehled měřených morfologických znaků

<u>Znaky na květech</u>
délka dolního korunního lístku
šířka dolního korunního lístku
délka ostruhy
délka horního korunního lístku
šířka horního korunního lístku
délka bočního korunního lístku
šířka bočního korunního lístku
délka mediálního kališního lístku
délka přívěsku mediálního kališního lístku
délka menších kališních lístků
délka přívěsků menších kališních lístků
délka větších kališních lístků
délka přívěsků větších kališních lístků
délka prašníků
počet žilek
<u>Znaky na tobolkách a semenech</u>
délka chlopně
počet semen v tobolce
hmotnost semen
<u>Znaky na listech</u>
délka
šířka
vzdálenost nejširšího místa od špičky listu
vzdálenost nejširšího místa od báze listu
vzdálenost "laloků" báze (šířka zářezu)
hloubka zářezu



Obr. 12: Ukázky měřených délek a barev v programu Cell^B na květu druhu *Viola reichenbachiana* (rostlina V12/1): (a) mediánní korunní lístek, (b) prašníky, (c) kališní lístky s přívěsky

3.10. Statistické zpracování

Ke statistickému zpracování jsem vybrala celkem 16 nejdůležitějších morfologických znaků. Pro každý znak jsem zvolila zkratku používanou ve statických analýzách, tabulkách a grafech (tab. 5). Jednorozměrné statistické analýzy jsem zpracovala v programu Statistica (StatSoft, Inc. 2010). Jako test rozdílů mezi druhy a jejich kříženci jsem zvolila jednofaktorovou analýzu rozptylu. Pro každý zvolený znak byl vytvořen krabicový graf znázorňující morfologickou variabilitu druhů *Viola reichenbachina*, *V. riviniana* a jejich kříženců a analýzu rozptylu, která říká, jestli se aspoň jeden taxon průkazně liší od ostatních. Průkaznost rozdílů jsem testovala Tukeyho HSD testem pro nestejný N (různý počet vzorků).

Za průkazné jsou považované rozdíly na hladině pravděpodobnosti $p = 0,05$ a méně. Při testování rozdílu mezi chasmogamickými a kleistogamickými tobolkami a mezi lodyžními listy a listy růžice jsem použila t-test a Mann-Whitneyův U test. Zvolila jsem tedy test pro parametrická i neparametrická data, a to proto, že rozdělení hodnot bylo téměř normální. Prováděla jsem také mnohorozměrné diskriminační analýzy, rovněž v programu Statistica. Všechny tabulky a grafy jsou v příloze na CD.

Tab. 5: Přehled statisticky hodnocených znaků a jejich zkratky užívané v tabulkách a grafech

Znaky na květech		
délka dolního korunního lístku	del_dkl	
šířka dolního korunního lístku	sir_dkl	
délka ostruhy	ostruha	
délka mediánního kališního lístku	kal_m	
délka přívěsku mediánního kališního lístku	kap_m	
délka prašníků	pras	
počet žilek	zilky	
Znaky na tobolkách a semenech		
délka chlopně	del_chlopne	
počet semen v tobolce	pocet_sem	
hmotnost semen	prum_hm	
Znaky na listech	lodyžní	růžice
délka	ld	rd
šířka	ls	rs
poměr délky a šířky	lsd	rsd
poměr délek od nejširšího místa	lnm	rnm
poměr hloubky zářezu a délky listu	lhzd	rhzd
poměr hloubky a šířky zářezu (otevřenost zářezu)	loz	roz

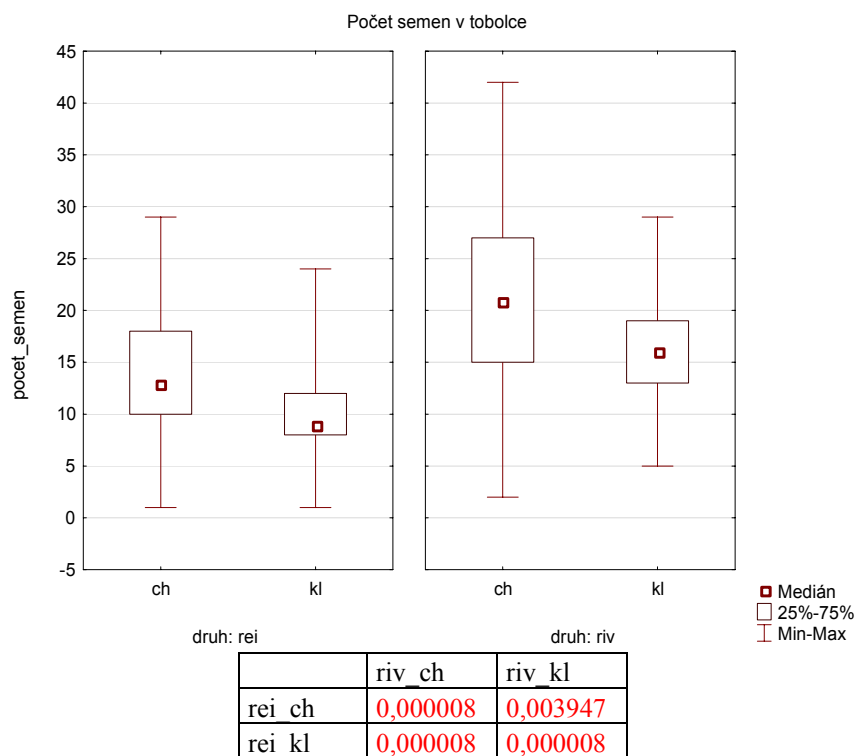
4. Výsledky

4.1. Tobolky a semena

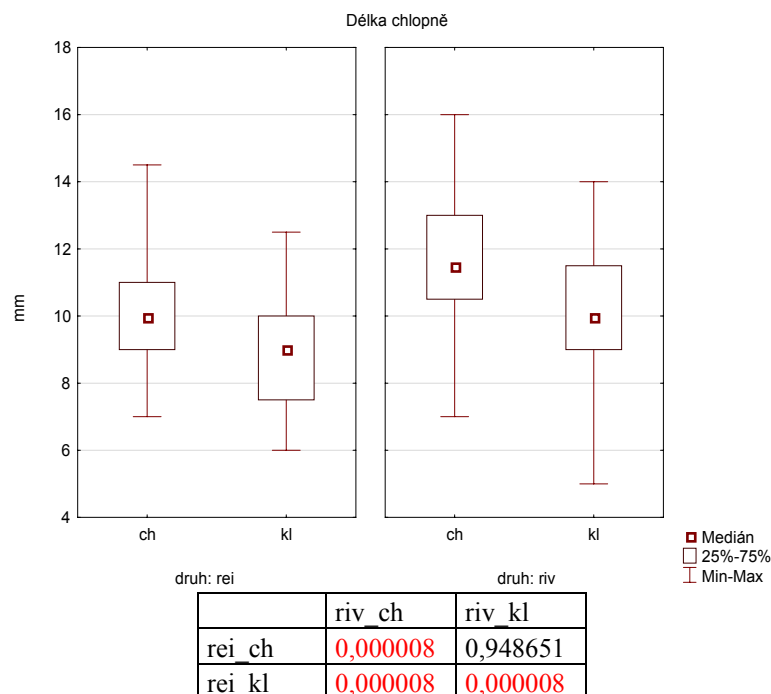
Na plodech jsem měřila morfologické znaky celkem na 513 tobolkách z 255 rostlin a 56 populací. Některá semena ještě nebyla zralá, proto se liší počet změřených tobolek a tobolek se zváženými semeny.

U druhu *Viola reichenbachiana* bylo změřeno 185 (z toho zváženo 173) tobolek vzniklých z chasmogamických květů a 155 (z toho zváženo 140) tobolek vzniklých z kleistogamických květů. U druhu *Viola riviniana* bylo změřeno i zváženo 86 tobolek vzniklých z chasmogamických květů a 87 (z toho zváženo 83) tobolek vzniklých z květů kleistogamických. Křížence obou druhů ($2n = 30$) jsem do statistické analýzy nezařadila, neboť jsou téměř sterilní a z chasmogamických květů tobolky nevznikají vůbec. Z kleistogamických květů se tvoří tobolky prázdné, nanejvýš s jedním až dvěma semeny, hmotnost jejich semen se však neliší od semen čistých druhů.

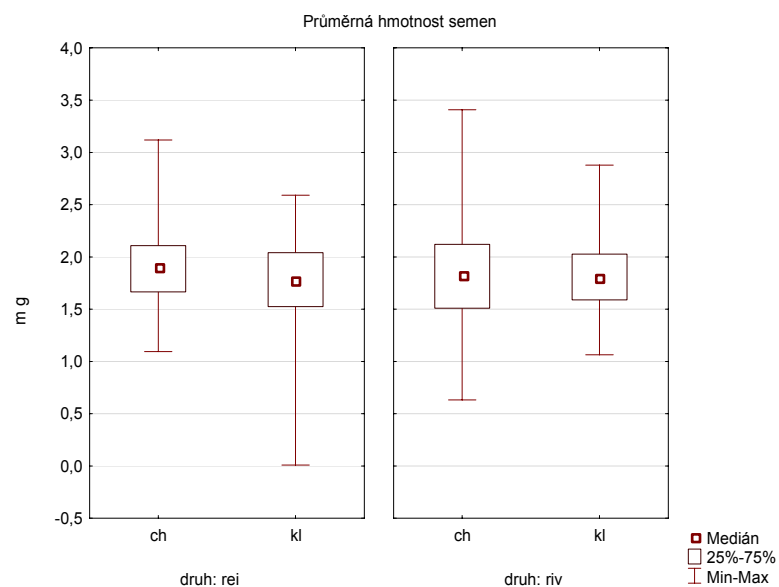
Na plodech a semenech druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana* se jako průkazné ukázaly rozdíly mezi jednotlivými druhy i mezi chasmogamickými a kleistogamickými tobolkami v rámci jednoho druhu u délky chlopně a počtu semen v tobolce (obr. 13 a 14). Průkaznost dokázal t-test, Mann-Whitneyův U test i jednofaktorová ANOVA. Průměrnou hmotností se průkazně liší pouze semena vzniklá z chasmogamických a kleistogamických květů druhu *V. reichenbachiana* a semena obou druhů vzniklá z chasmogamických květů. U druhu *V. riviniana* se průkazný rozdíl mezi chasmogamickými a kleistogamickými tobolkami neukázal (obr. 15).



Obr. 13: Počet semen v tobolkách druhů *Viola reichenbachiana* (rei) a *V. riviniana* (riv) vzniklých z chasmogamických (ch) a kleistogamických (kl) květů; krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



Obr. 14: Délka chlopně tobolek druhů *Viola reichenbachiana* (rei) a *V. riviniana* (riv) vzniklých z chasmogamických (ch) a kleistogamických (kl) květů; krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



	riv_ch	riv_kl
rei_ch	0,009750	0,207735
rei_kl	0,832429	0,993942

Obr. 15: Průměrná hmotnost semen druhů *Viola reichenbachiana* (rei) a *V. riviniana* (riv) vzniklých z chasmogamických (ch) a kleistogamických (kl) květů; krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehlejších hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %

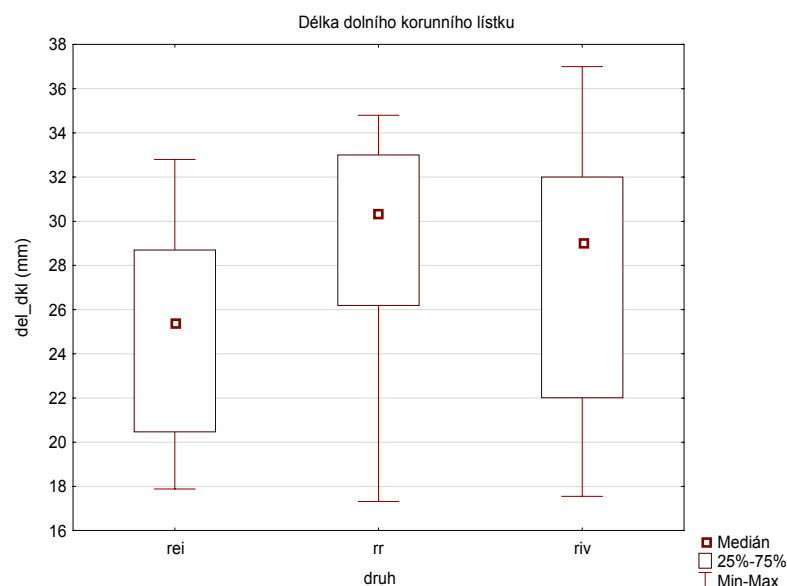
4.2. Květy

Znaky na květech jsem měřila celkem na 195 vzorcích (93 jedinců druhu *Viola reichenbachiana*, 68 jedinců druhu *V. riviniana* a 20 jedinců křížence *V. reichenbachiana* × *V. riviniana*) z 52 populací. Kromě délky ostruhy se od sebe oba druhy prokazatelně liší ve všech sledovaných znacích. Kříženci se vždy prokazatelně liší od druhu *V. reichenbachiana*. Od druhu *V. riviniana* se kříženci prokazatelně liší pouze délkou přívěsku mediánního kališního lístku a délkou ostruhy, která je u kříženců delší než u obou rodičovských druhů. V ostatních sledovaných znacích jsou kříženci svými rozměry intermediární mezi oběma druhy. Dobře čitelná je také velká variabilita druhu *V. riviniana* (obr. 16–21).

Do diskriminační analýzy jsem zařadila všechny změřené znaky. Procento spolehlivosti určení je 98 % u druhu *V. reichenbachiana*, 70 % u druhu *V. riviniana* a 77 % u křížence *V. reichenbachiana* × *V. riviniana*. Výsledné procento spolehlivosti určení do tří skupin podle daných znaků je tedy 87 % (obr. 22). Diskriminační analýza rovněž ukázala, že nejvhodnější determinální znaky jsou rozměry všech korunních lístků, počet žilek, mediánní kališní lístek a jeho přívěsek.

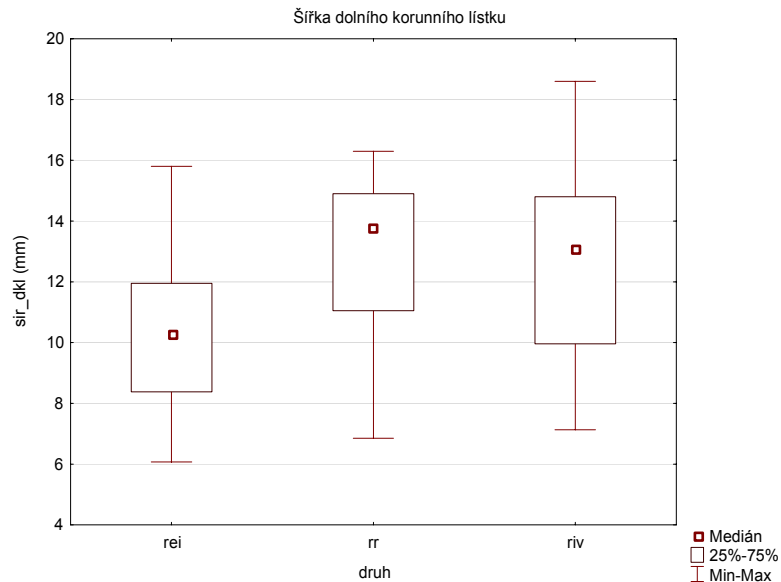
Kromě rozdílů mezi druhy jsem sledovala také rozdíly mezi populacemi v rámci jednoho druhu. Z celkových 56 populací náleželo druhu *Viola reichenbachiana* 29 (z toho 10 směsných) a druhu *V. riviniana* 27 (z toho 10 směsných). Směsné populace jsem rozdělila podle druhů a s jednotlivými částmi počítala jako s „čistými“ populacemi. Rozdíly mezi populacemi jsem měřila u týchž znaků, jejichž rozdíly jsem testovala mezi jednotlivými taxony. Zvolila jsem jednofaktorovou analýzu rozptylu a Tukeyův HSD test.

U druhu *Viola reichenbachiana* se od sebe průkazně odlišovaly některé populace především u délky a šířky dolního korunního lístku a v délce prašníků, o něco méně v délce mediánního kališního lístku, a téměř vůbec v délce ostruhy a prašníků. V těchto znacích se nejčastěji odlišovaly populace ze Slavkova u Brna, Brna–Řečkovice, Štáhlavic, Javorníka nad Veličkou, Křivokláta, Klobouček a Čebína a dále populace z Alp a Ukrajiny. U druhu *V. riviniana* se od sebe populace průkazně nelišily v délce ostruhy, prašníku a přívěsku mediánního kališního lístku, pouze několik málo populací se lišilo v délce a šířce dolního korunního lístku a mediánního kališního lístku. Nejčastěji se průkazně lišily populace ze Slavkova, Brna a Štáhlavic, dále z Konopiště, Horního Břečkova, Karlovy Vsi, Černé Hory a Německa (viz CD přílohu).



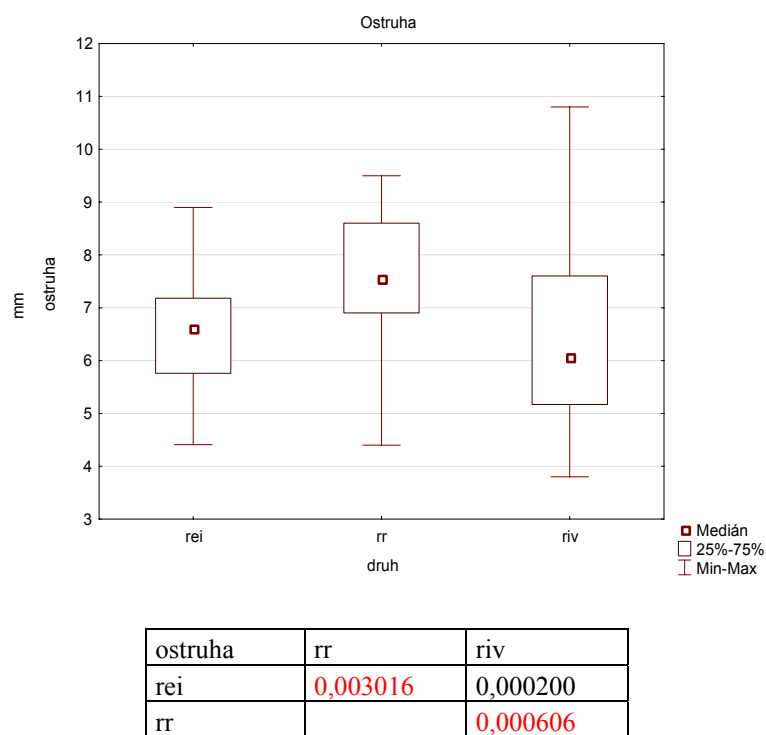
	rr	riv
rei	0,000747	0,008314
rr		0,340893

Obr. 16: Délka dolního korunního lístku druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %

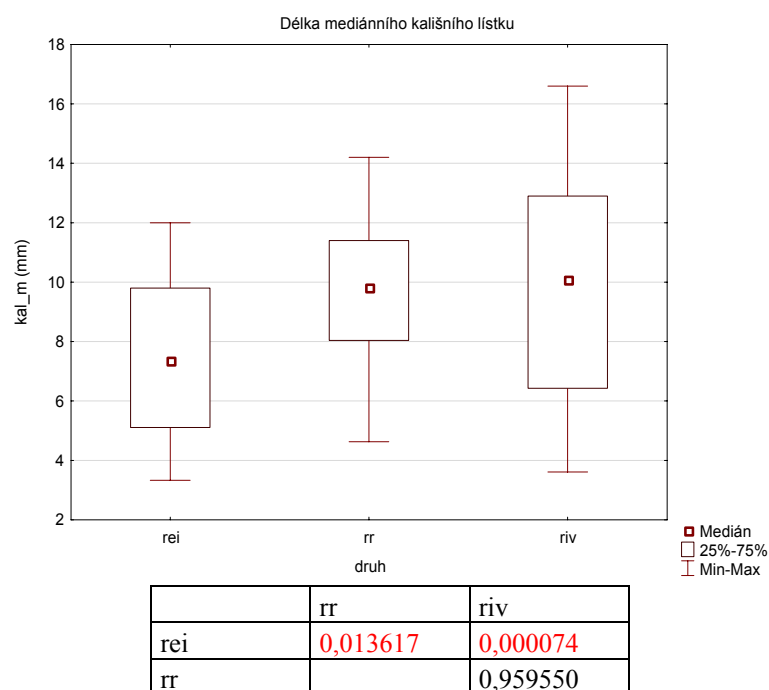


	rr	riv
rei	0,000143	0,000200
rr		0,509995

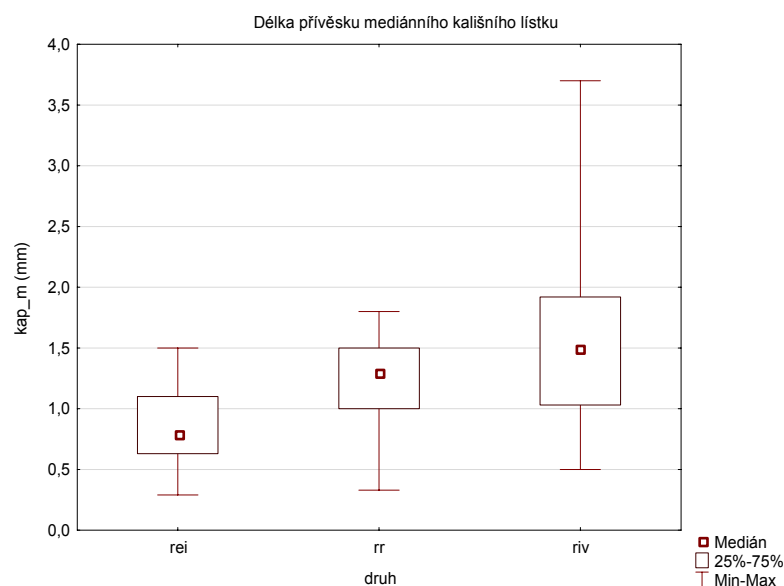
Obr. 17: Šířka dolního korunního lístku druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



Obr. 18: Délka ostruhy druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %

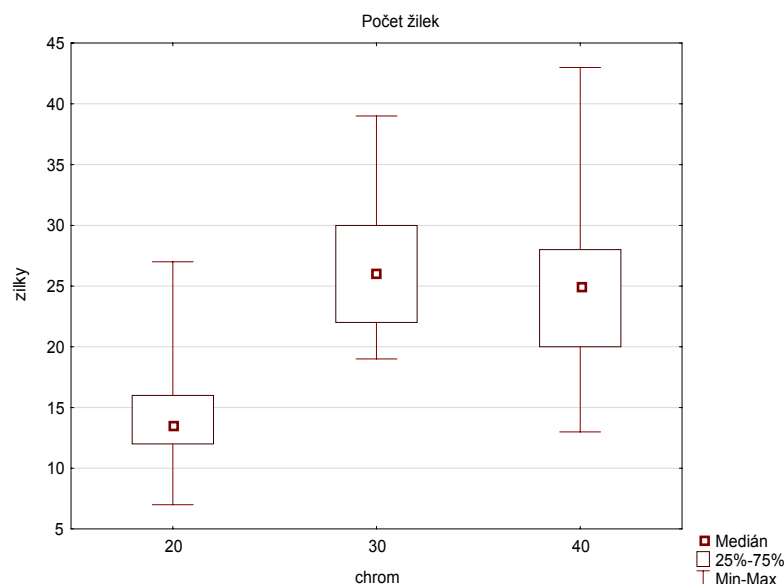


Obr. 19: Délka mediánního kališního lístku druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



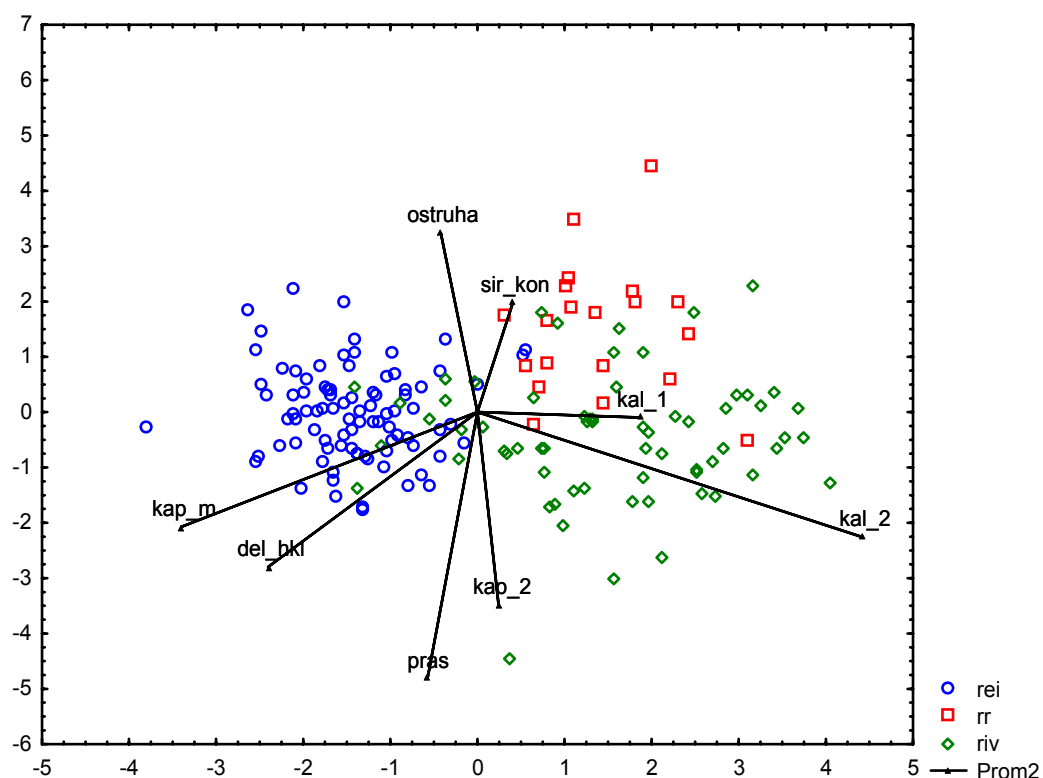
kap_m	rr	riv
rei	0,006025	0,000022
rr		0,027198

Obr. 20: Délka přívěsku mediánního kališního lístku druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



	rr	riv
rei	0,000022	0,000022
rr		0,332408

Obr. 21: Počet žilek na dolním korunním lístku druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



	%	rei	riv	rr
rei	98,7	75	0	1
riv	70,7	7	29	5
rr	77,8	1	3	14
Celkem	87,4	83	32	20

Obr. 22: Diskriminační analýza; barevně odlišené body znázorňují jednotlivé druhy *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr). Tabulka udává procento spolehlivosti zařazení druhů do tří skupin podle daných znaků (sir_kon: délka od nejširšího místa po konec mediálního korunního lístku; kal_1: délka menšího kališního lístku; kal_2: délka většího kališního lístku; kap_2: délka přívěsku většího kališního lístku; pras: prašníky; del_hkl: délka horního korunního lístku; kap_m: délka přívěsku mediálního kališního lístku)

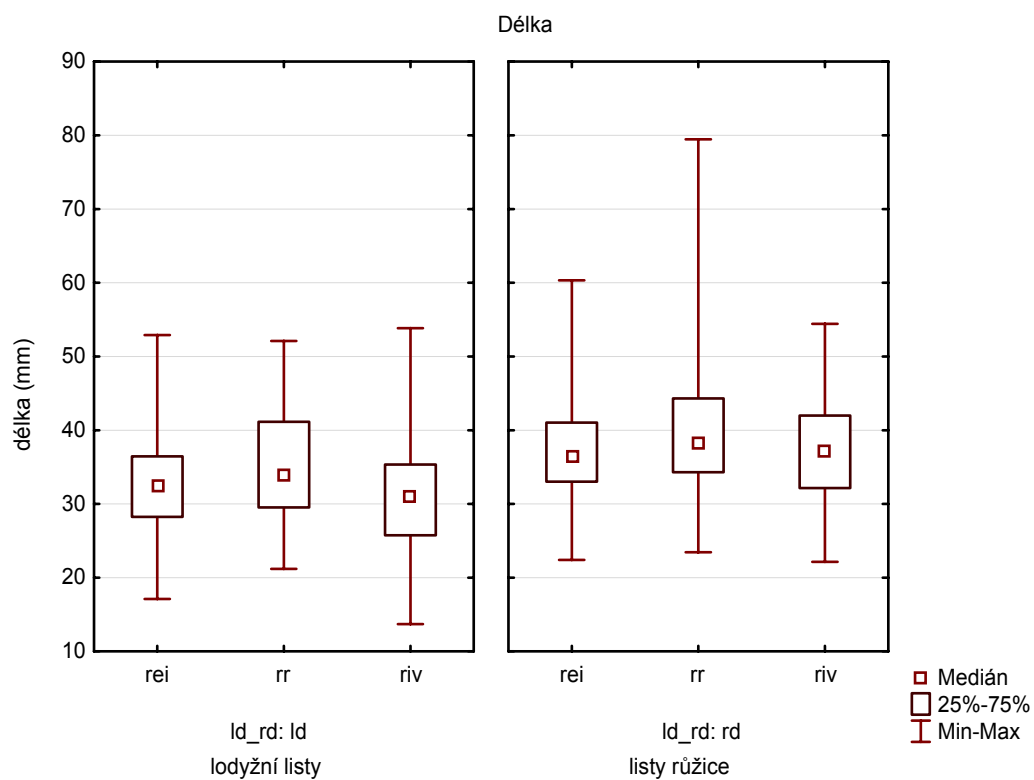
4.3. Listy

U listů jsem měřila znaky na celkem 314 listech lodyžních a 310 listech přízemní růžice ze 181 jedinců. U druhu *Viola reichenbachiana* jsem hodnotila znaky 166 listů lodyžních a 167 listů přízemní růžice, u druhu *V. riviniana* 104 lodyžních listů a 101 listů přízemní růžice a u křížence *V. reichenbachiana* × *V. riviniana* 44 listů lodyžních a 42 listů přízemní růžice.

Jako statisticky průkazné se ukázaly rozdíly znaků na lodyžních listech a některých znaků na listech přízemní růžice. U jednotlivých druhů a jejich křížence byla u lodyžních listů průkazná délka a šířka čepele, v poměru délky a šířky, poměru délek od nejširšího místa a poměru délky a hloubky zářezu se od sebe průkazně odlišovaly pouze rodičovské druhy a kříženec byl intermediární bez průkazné odlišnosti od obou druhů, v poměru hloubky zářezu a délky listu se pak průkazně lišil druh *V. reichenbachiana* od druhu *V. riviniana* i od křížence, zatímco druh *V. riviniana* se od křížence průkazně nelišil. U znaků na listech růžice se druhy od sebe průkazně lišily ve všech sledovaných znacích. Kříženec se průkazně lišil od druhu *V. reichenbachiana* v šířce čepele, poměru šířky a délky a v poměru délek od nejširšího místa a od druhu *V. riviniana* v délce čepele a v poměru šířky a délky (obr 23–28).

Do diskriminační analýzy jsem zařadila stejné znaky jako do ostatních statistických testů. Procento spolehlivosti určení je 69 % u druhu *V. reichenbachiana*, 51 % u druhu *V. riviniana* a 55 % u křížence *V. reichenbachiana* × *V. riviniana*. Výsledné procento spolehlivosti určení do tří skupin podle daných znaků je tedy 62 % (obr. 29). Jako relativně dobré determinační znaky se prokázaly délka a šířka listů růžice, jejich poměr, dále poměr délek od nejširšího místa k bázi a ke špičce čepele a poměr hloubky zářezu a délky listu.

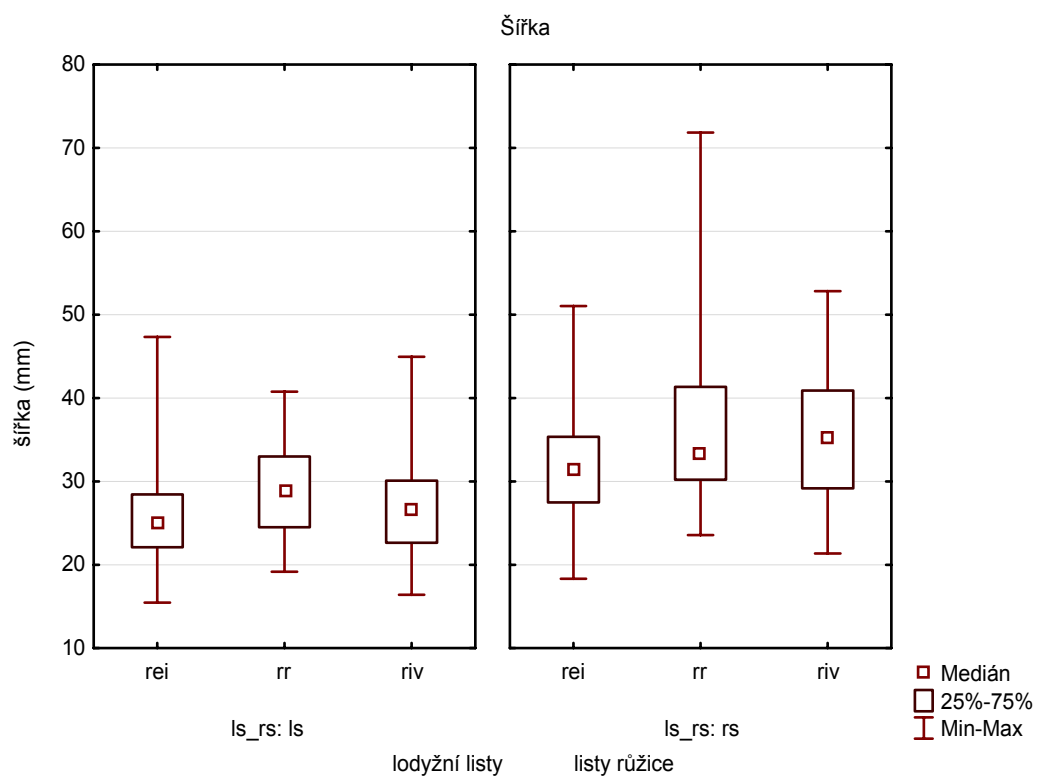
Obrázek 30 ukazuje subjektivní výběr tvarů listů přízemní růžice a lodyžních listů, které se vyskytují v populacích studovaných druhů a jejich křížence.



ld	rei	rr	riv
rei		0,028329	0,001851
rr	0,028329		0,000027
riv	0,001851	0,000027	

rd	rei	rr	riv
rei		0,914404	0,000111
rr	0,914404		0,003943
riv	0,000111	0,003943	

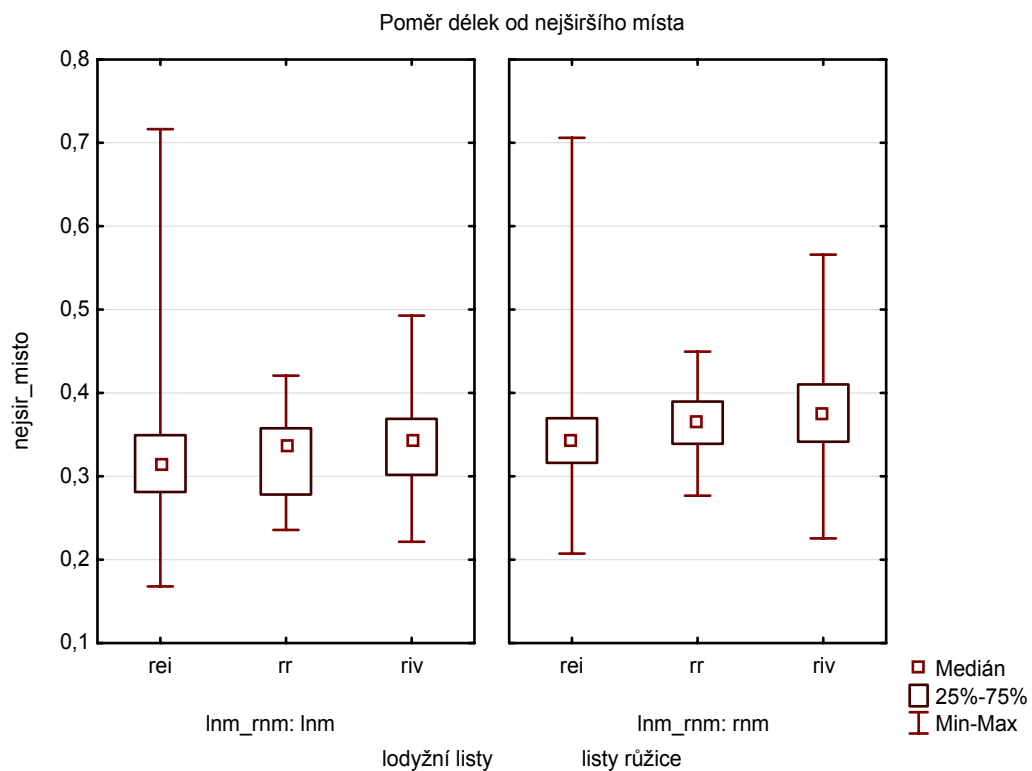
Obr. 23: Délka lodyžních listů a listů růžice druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



ls	rei	rr	riv
rei		0,000037	0.029220
rr	0,000037		0.032033
riv	0.029220	0.032033	

rs	rei	rr	riv
rei		0.001550	0.000357
rr	0.001550		0.813855
riv	0.000357	0.813855	

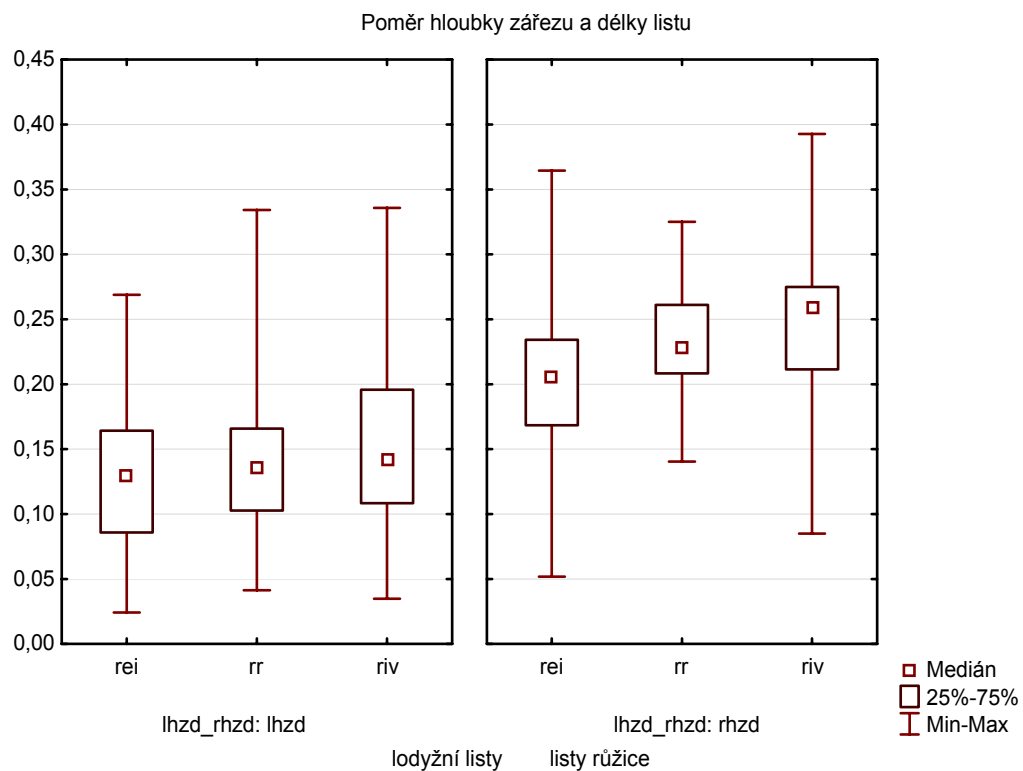
Obr. 24: Šířka lodyžních listů a listů růžice druhů *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana*; krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50% všech hodnot) a zbylých 50% neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95%



lnm	rei	rr	riv
rei		0,613029	0,007012
rr	0,613029		0,444328
riv	0,007012	0,444328	

rnm	rei	rr	riv
rei		0,010851	0,000022
rr	0,010851		0,586122
riv	0,000022	0,586122	

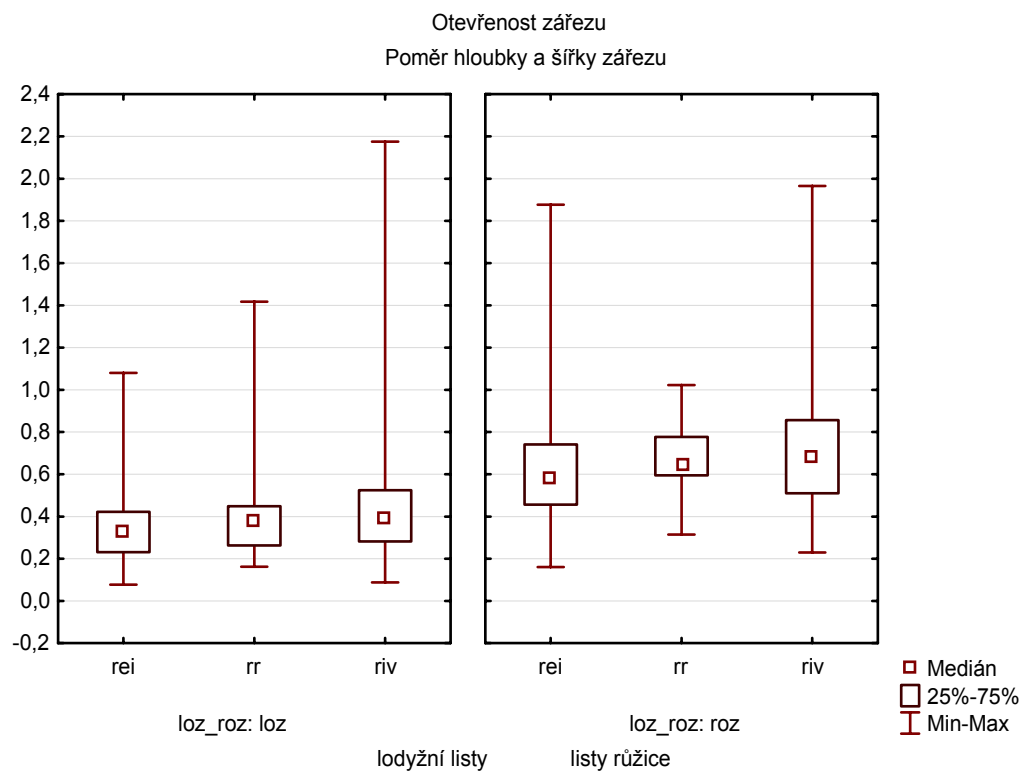
Obr. 26: Poměr délky od nejširšího místa k bázi čepele a délky od nejširšího místa ke špičce čepele lodyžních listů a listů růžice druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



lhzd	rei	rr	riv
rei		0,557402	0,000556
rr	0,557402		0,233858
riv	0,000556	0,233858	

rhzd	rei	rr	Riv
rei		0,003136	0,000022
rr	0,003136		0,413604
riv	0,000022	0,413604	

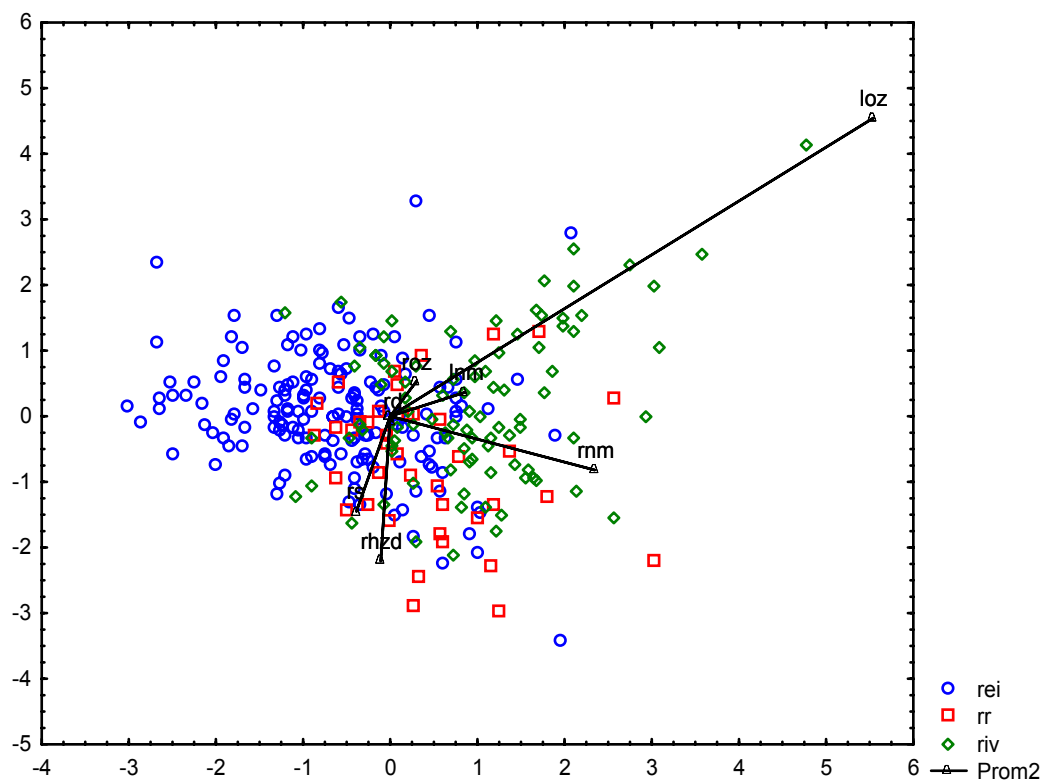
Obr. 27: Poměr hloubky zářezu a délky listu u lodyžních listů a listů růžice druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



loz	rei	rr	riv
rei		0,694451	0,001074
rr	0,694451		0,199060
riv	0,001074	0,199060	

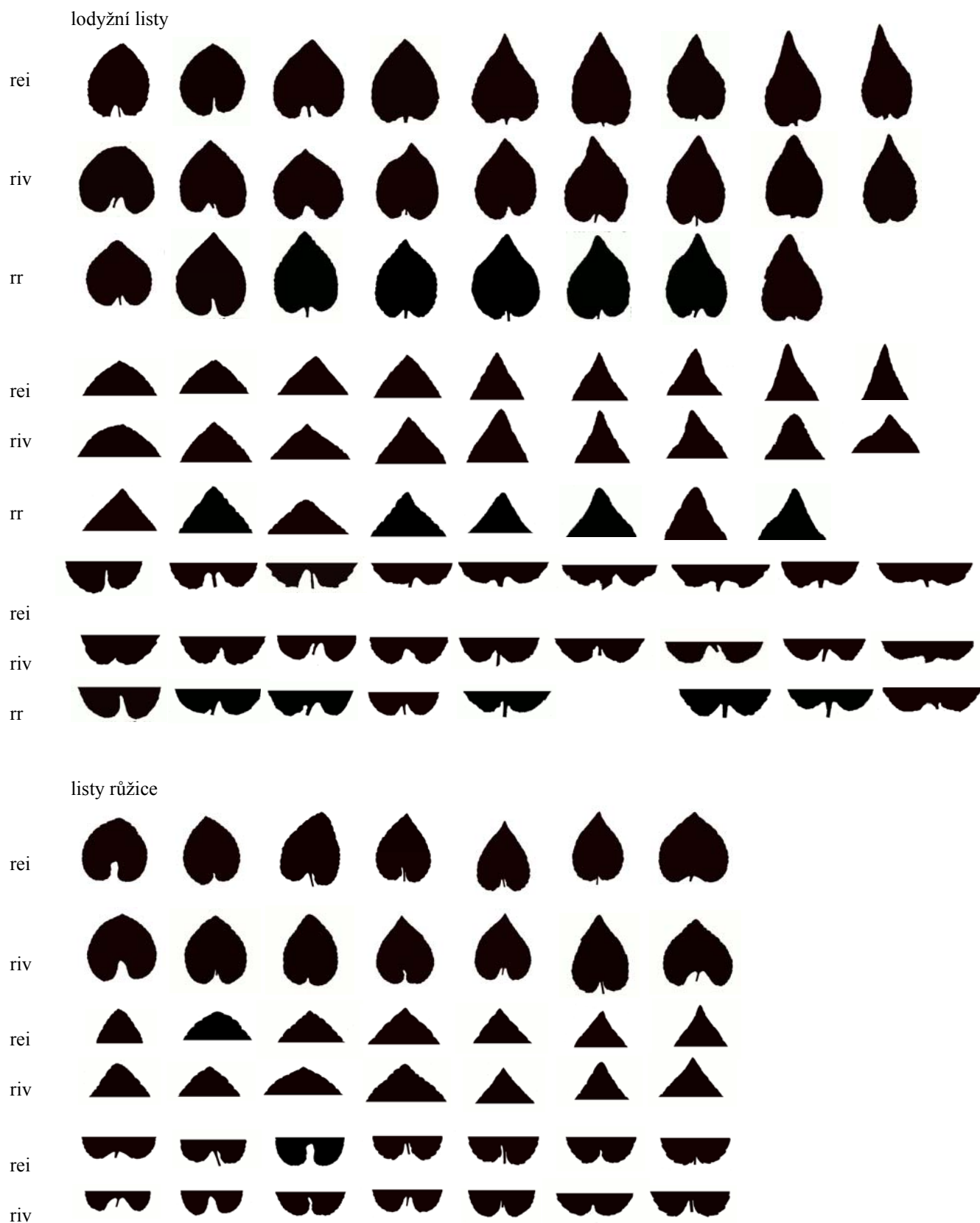
roz	rei	rr	riv
rei		0,495480	0,011634
rr	0,495480		0,648207
riv	0,011634	0,648207	

Obr. 28: Poměr hloubky zářezu a vzdálenosti dvou „laloků“ listové báze u lodyžních listů a listů růžice druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehklých hodnot; Tukeyův HSD test udává hodnoty „p“ na hladině pravděpodobnosti 95 %



listy_urc	%	rei	rr	riv
rei	69,7	115	33	17
riv	51,6	17	28	48
rr	55,0	11	22	7
Celkem	62,1	143	83	72

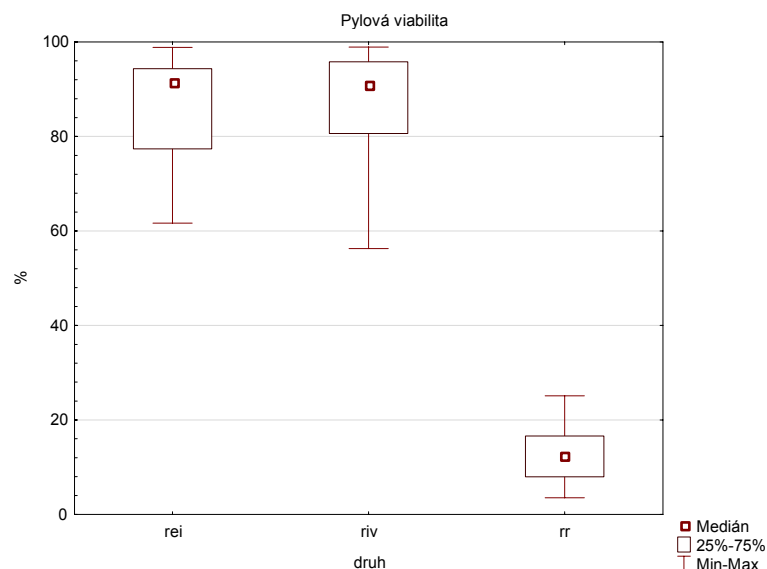
Obr. 29: Diskriminační analýza; barevně odlišené body znázorňují jednotlivé druhy *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr). Tabulka udává procento spolehlivosti zařazení druhů do tří skupin podle daných znaků



Obr. 30: Subjektivní výběr tvarů čepele listů přizemní růžice a lodyžních listů, které se vyskytují v populacích druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr). Zobrazen celkový tvar čepele, detail jejího vrcholu a báze

4.4. Vitální barvení pylových zrn

Pylová zrna jsem barvila celkem u 76 jedinců (28 jedinců druhu *Viola reichenbachiana*, 26 jedinců druhu *V. riviniana* a 22 jedinců křížence *V. reichenbachiana* × *V. riviniana*). Zatímco životaschopnost pylových zrn u jednotlivých druhů je téměř 90 %, pylová zrna křížence jsou životaschopná jen z 12 % (obr. 31).



Obr. 31: Životaschopnost pylových zrn druhů *Viola reichenbachiana* (rei), *V. riviniana* (riv) a jejich křížence (rr); krabicový graf znázorňuje medián, horní a dolní kvartil (50 % všech hodnot) a zbylých 50 % neodlehých hodnot

5. Diskuse

Ve floristické literatuře se často diskutuje o spolehlivých morfologických znacích mezi druhy *Viola reichenbachiana* a *V. riviniana*, které by umožnily tyto dva druhy vymezit a jednoznačně je od sebe odlišit. Autoři se většinou shodují v rozdílech na reprodukčních orgánech, tedy květech a plodech, především zmiňují velikost mediánního korunního lístku, barvu a tvar ostruhy, délku přívěsků kališních lístků, velikost tobolek a počet i velikost semen. Někteří autoři zmiňují také žilnatinu, která vytváří kresbu na mediánním korunním lístku. Velmi nejednotné jsou názory týkající se rozdílů na listech, a to v délce a šířce listové čepele, případně v poměru těchto dvou rozměrů. Autoři se zabývají pouze listy přízemní růžice.

Zatímco Kirschner & Skalický (1990) a Trees-Frick (1993) uvádějí značné rozdíly mezi délkou a šířkou (příp. jejich poměrem) čepele přízemních listů, Karlsson & Marcussen (2010) považují rozdíly za minimální a Valentine (1950) přímo říká, že podobnost listů je příliš velká, než aby se tvar čepele dal použít jako determinační znak. Má měření se téměř shodují s údaji v květeně Flora Nordica (Karlsson & Marcussen 2010), rozdíl je pouze ve větším rozsahu naměřených hodnot. Délka čepele přízemního listu u druhu *Viola reichenbachiana* činila 2,2–6,1 cm a šířka 1,8–5,1 cm (poměr 0,85), u druhu *V. riviniana* 2,2–5,5 cm a 2,1–5,4 cm (poměr 0,9–1). Jakkoli jsou rozdíly mezi druhy průkazné, tvar listové čepele je velmi rozmanitý a všechny tvarové typy, které jsem pozorovala u druhu *V. reichenbachiana*, jsem pozorovala v menší či větší míře také u druhu *V. riviniana* a naopak. Diskriminační analýza prokázala procento spolehlivosti určení podle daných znaků pouze 62 %. Proto souhlasím s názory těch autorů, kteří jsou k použití tvaru přízemních listů k rozlišení obou druhů poněkud skeptičtí (Valentine 1950, Karlsson & Marcussen 2010). Mezidruhový kříženec se v délce průkazně nelišil od druhu *V. reichenbachiana*, jehož čepel přízemních listů je průkazně delší než u druhu *V. riviniana*, a v šířce listové čepele se nelišil od druhu *V. riviniana*, který je průkazně širší než u druhu *V. reichenbachiana*. To je rovněž v souladu s tvrzením, že kříženci první filiální generace jsou statnější než rodiče (Valentine 1950). Také lodyžní listy křížence byly prokazatelně delší i širší než lodyžní listy obou rodičů. Lodyžními listy se v literatuře nezabývá žádný z autorů. Podle mých měření jsou lodyžní listy u druhu *V. reichenbachiana* 1,5–5,3 cm dlouhé a 1,6–4,8 cm široké (poměr 0,8) a u druhu *V. riviniana* jsou listy 1,4–5,4 cm dlouhé a 1,5–4,5 cm široké (poměr 0,85). Ostatní měřené ani vypočtené znaky na listech nejsou pro běžné rozlišování obou druhů vhodné.

Většina autorů (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010, Trees-Frick 1993, Valentine 1950) se shoduje v tom, že kališní lístky druhu *Viola reichenbachiana* jsou

průkazně kratší než u druhu *V. riviniana*. Valentine (1950) také tvrdí, že kališní lístky u *V. reichenbachiana* za plodu odstávají od tobolky, zatímco u *V. riviniana* zůstávají k tobolce přitisklé. Já jsem tento rozdíl nepozorovala. Ve svých měřeních se shodují se všemi autory, přestože jsem se zaměřila hlavně na mediánní kališní lístek. Délka kališních lístků mi u violky lesní vyšla 3,6–12 (nejčastěji 7,5) mm, u violky Rivinovy prokazatelně delší a zároveň velmi variabilní a pohybovala se nejčastěji v rozmezí 3,5–16,5 (nejčastěji 10) mm.

Ještě důležitějším determinačním znakem jsou přívěsky kališních lístků. Kirschner & Skalický (1990) označují tvar kališních lístků u violky lesní jako zaokrouhlený, u violky Rivinovy pak jako obdélníkový, zatímco podle Karlssona & Marcussena (2010) je u obou druhů okrouhlý. Moje pozorování se shoduje s údaji v Květeně České republiky. Většina autorů (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010, Rich & Jermy 1998) se shoduje v maximální délce kališních přívěsků druhu *Viola reichenbachiana* 1,5 mm a druhu *V. riviniana* 2,5 mm. Trees-Frick (1993) uvádí průměrnou délku přívěsků 0,83 mm u druhu *V. reichenbachiana* a 1,68 mm u druhu *V. riviniana*. Valentine (1950) neudává žádné rozměry kališních přívěsků, pouze říká, že kališní přívěsky druhu *V. riviniana* jsou mnohem delší než u druhu *V. reichenbachiana*. Moje měření se v podstatě shoduje se všemi autory, ale maximální délka kališních přívěsků u druhu *V. riviniana* mi vychází přes tři milimetry.

Korunní lístky jsou podle dostupné literatury obvejčité, u druhu *Viola reichenbachiana* užší než u druhu *V. riviniana* (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010, Rich & Jermy 1998, Valentine 1950), u violky lesní nejvýš 20 mm dlouhé, u violky Rivinovy až 25 mm dlouhé (Kirschner & Skalický 1990). Údaje citovaných autorů se shodují s mými výsledky v tom, že květy druhu *V. riviniana* jsou celkové větší. Dolní korunní lístek tohoto druhu byl v mých výsledcích 17,5–37 mm dlouhý a 7–18 mm široký a u druhu *V. reichenbachiana* byl 18–32,5 mm dlouhý a 6–16 mm široký.

V literatuře se často diskutuje také barva korunních lístků obou druhů. U violky lesní je odstín fialové charakterizován jako modrofialový, lilákový, růžový (Kirschner & Skalický 1990, Rich & Jermy 1998), případně také červenofialový až modrý (Karlsson & Marcussen 2010), zatímco u violky Rivinovy jsou lístky spíše bledě modré až bledě fialové (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010) nebo břidlicově modré (Rich & Jermy 1998). Já jsem se barvou korunních lístků zabývala v bakalářské práci, kde jsem měřila intenzitu barev na různých částech mediánního korunního lístku. Průkazné rozdíly byly v místech mezi žilkami a na ostruže, ale v části korunního lístku, kterou máme nejčastěji možnost porovnávat, byla intenzita barev velmi podobná. Přesto je z pozorování patrné, že korunní lístky druhu *Viola reichenbachiana* jsou sytější fialové barvy a lístky druhu *V. riviniana* jsou světlejší a spíše tíhnou do modrého odstínu, což je v podstatě v souladu s literaturou.

Ostruha, která je důležitým determinačním znakem, se často uvádí u druhu *Viola reichenbachiana* tenká, silná 2–3 mm (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010, Trees & Frick 1993) a sytě fialová (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010, Trees & Frick 1993, Valentine 1950), liláková (Rich & Jermy 1998) nebo vzácně bílá (Karlsson & Marcussen 2010). U druhu *V. riviniana* je podle různých autorů silná až 3 mm (Kirschner & Skalický 1990), průměrně 3,6 mm (Trees & Frick 1993), bílá nebo světle fialová (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010, Valentine 1950, Rich & Jermy 1998). Délce ostruhy nepřikládají autoři velký význam a ani mně nevyšly mezi druhy průkazné rozdíly. Měřit šířku není u vylišovaných květů ani herbářových položek možné, protože preparací a sušením rostlin se ostruha deformuje, mj v závislosti na použitém zatížení. V barvě ostruhy se mé pozorování i měření intenzity barev v bakalářské práci shoduje s tvrzením autorů.

Dalším důležitým a spolehlivým determinačním znakem je i žilnatina na mediálním korunním lístku. Kirschner & Skalický (1990), Karlsson & Marcussen (2010) a Rich & Jermy (1998) zmiňují pouze malý počet žilek soustředěný na střed lístku u violky lesní a větší počet větvených žilek na lístku u violky Rivinovy. V mých analýzách vychází průkazný rozdíl v počtu žilek mezi oběma druhy, což je ve shodě s citovanými autory. V několika případech jsem také napočítala extrémě velký počet žilek u violky Rivinovy a domnívám se, že se jedná o taxon v literatuře označený jako *Viola riviniana* subsp. *minor*. Ta by však měla mít žilky spíše málo větvené a nepočetné (Valentine 1941).

Tobolky obou druhů jsou vejcovité (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010) u violky lesní 7–10 mm dlouhé a u vilky Rivinovy 8–12 mm dlouhé (Karlsson & Marcussen 2010). Mé výsledky potvrdily, že violka Rivinova má delší chlopně tobolek než violka lesní, ale konkrétní rozměry jsou velmi odlišné. U violky lesní jsem u tobolek vzniklých z chasmogamických květů naměřila průměrnou délku chlopně 10 mm a u tobolek vzniklých z kleistogamických květů 8,5 mm, u violky Rivinovy pak 11,5 mm u tobolek vzniklých z chasmogamických květů a 10 mm u tobolek vzniklých z kleistogamických květů. U délky a šířky semen uvádějí Kirschner & Skalický (1990) a Karlsson & Marcussen (2010) velmi malé rozdíly. Podle jejich názoru jsou u druhu *Viola riviniana* semena jen asi o desetinu milimetru delší i širší než u druhu *V. reichenbachiana*. Naproti tomu Trees & Frick (1993) tvrdí, že delšími semeny se vyznačuje *V. reichenbachiana*.

Valentine (1941, 1950) zjišťoval a hodnotil také hmotnost semen. Pro druh *V. reichenbachiana* uvádí průměrný počet semen v tobolce 11 a průměrnou hmotnost 2,35 mg u tobolek vzniklých z chasmogamických květů a 11,5 semene v tobolce a průměrnou hmotnost semen 1,95 mg u tobolek vzniklých z kleistogamických květů. Pro druh *V. riviniana* uvádí

Valentine průměrný počet semen v tobolce 22 a průměrnou hmotnost semen 1,35 mg u tobolek vzniklých z chasmogamických květů a 19,5 semene a průměrnou hmotnost semen 1,5 mg u tobolek vzniklých z kleistogamických květů. Mé výsledky jsou velmi podobné, především u druhu *V. reichenbachiana*, kde mi u tobolek z chasmogamických květů vyšel průměrný počet semen v tobolce 11, s průměrnou hmotností 1,93 mg a u tobolek vzniklých z kleistogamických květů je průměrný počet semen 9,5 a průměrná hmotnost 1,82 mg. U druhu *V. riviniana* se mé výsledky v hodnotách mírně liší od Valentinových. U tobolek vzniklých z chasmogamických květů jsem napočítala průměrně 21 semen s hmotností 1,78 mg a u tobolek z kleistogamických květů průměrně 16 semen s průměrnou hmotností 1,84 mg. V každém případě považuji za nutné rozlišovat při statistických analýzách průkaznosti rozdílů mezi druhy na tobolkách a semenech mezi plody chasmogamického a kleistogamického původu.

O barvě semen se v literatuře příliš nediskutuje, pouze Kirschner & Skalický (1990) a Karlsson & Marcussen (2010) uvádějí barvu semen u obou druhů světle hnědou. Má vlastní pozorování se s tímto tvrzením neshodují, neboť zralá semena byla u druhu *Viola reichenbachiana* světle až sytě béžová, u druhu *V. riviniana* sytě béžová až tmavě hnědá. Nemohu souhlasit ani s tvrzením, že se tobolky otvírají za současného vystřelování semen (Kirschner & Skalický 1990, Karlsson & Marcussen 2010). Semena naopak po otevření tobolky zůstávají v chlopních a teprve při dalším sesychání se chlopně svírají a vystřelují semena.

V hybridizačních pokusech vycházela životaschopnost pylu kříženců asi 26 %, životaschopnost pylu rodičů však Valentine (1950) neuvádí. Také podle mých výsledků je pyl kříženců mnohem méně životaschopný než pyl rodičů, ale hodnoty jsou odlišné. Podle mých výsledků bylo u kříženců životaschopných pouze 12 % pylových zrn. Tyto rozdíly lze zčásti přičíst jinému činidlu, neboť Valentine ve svých pokusech použil acetokarmín. Pylová zrna rodičů vykazovala téměř 90% životaschopnost. Malá pylová viabilita kříženců nemusí znamenat úplnou neschopnost oplození, což dokazuje částečná fertilita křížence, ale domnívám se, že nemůže být dostatečná ke vzniku celých hybridních rojů, zpětnému křížení s rodiči, až do úplného zániku čistých druhů, jak popisuje literatura (např. Kirschner & Skalický 1990).

Výsledky studia morfologické variability druhů ukazují, že tetraploidní (nebo sekundárně diploidní) *Viola reichenbachiana* představuje morfologicky poměrně dobře vymezený taxon. Naopak oktoploidní (sekundárně tetraploidní) *V. riviniana* je především ve znacích na redprodukčních orgánech (zejména květech) mnohem variabilnější a poměrně obtížně vymežitelná, a to jak vůči druhu *V. reichenbachiana*, tak zejména vůči křížencům s tímto druhem. Vzájemnou podobnost obou rodičovských druhů lze nejlépe vysvětlit jejich genomovou konstitucí: jak naznačují výsledky karyologických studií (Moore & Harvey

1961), studium fylogenie tzv. low-copy genů (van den Hof et al. 2008) a využití mikrosatelitových markerů (Hepenstrick 2009), získaly oba druhy genom ze společného předka; druhý genom sdílí alopolyloidní *V. riviniana* s druhem *V. canina*.

Analýza morfologické variability tak, jak byla uplatněna v této práci, neumožňuje odpovědět na otázku, zda je velká morfologická variabilita druhu *V. riviniana* především projevem jejího alopolyloidního původu, popř. do jaké míry se na jejím vzniku podílí recentní nebo historické křížení s druhem *V. reichenbachiana*, např. během imigrace z glaciálních refugií. Recentní křížence lze najít na všech lokalitách nebo aspoň na většině lokalit, na nichž se oba druhy vyskytují společně. Kultivace hybridních rostlin a vitální barvení pylu však ukázaly, že primární kříženci jsou do velké míry sterilní, a proto nelze očekávat vznik pravých hybridních rojů. Je však možné, že některé „intermediární“ rostliny mohou představovat křížence, na jejichž vzniku se podílely neredukované gamety druhu *V. reichenbachiana*. Frekvence takového křížení, fertilita těchto hybridních rostlin, popř. vzájemné interakce obou blízce příbuzných genomů představují zajímavé téma možného dalšího výzkumu.

Z výsledků i diskuse vyplývá, že praktické určování kvetoucích nebo plodných rostlin (dobrá plodnost současně vylučuje hybridní původ rostliny) v terénu je možné s dobrým výsledkem. Naopak u sterilních rostlin lze očekávat velmi malou úspěšnost, poněvadž rozdíly ve tvaru některých listů jsou sice aspoň zčásti statisticky průkazné, ale při praktickém určování jen obtížně využitelné. Bezpečné odlišení některých kříženců a extrémních morfotypů druhu *V. riviniana* pak vyžaduje opakované pozorování rostliny během vegetační sezony nebo zkoušku životaschopnosti pylu, příp. stanovení počtu chromozomů nebo ploidní úrovně.

Při určování rostlin v herbáři se nemůžeme spoléhat na barvu květů, neboť ta se při sušení velmi rychle ztrácí. Nelze tedy porovnat barvu ostruhy ani korunních lístků. I tady však platí, že pokud máme k dispozici kvetoucí a fertilní rostliny, je určení poměrně spolehlivé.

Sterilní rostliny s vyvinutými lodyhami se dají určit s velmi malou spolehlivostí. V provedených analýzách sice vycházejí rozdíly některých znaků průkazné, ale často se jedná o poměry různých délek, které jsou nevhodnými determinačními znaky při práci v terénu. Navíc velký rozsah hodnot vybraných znaků neumožňuje spolehlivou determinaci. Spolehlivé určení sterilních růžic je podle mého názoru nemožné.

6. Klíč k určení kvetoucích a plodných rostlin

Z výsledků práce je patrné, že zatímco na fertilních částech rostlin jsou velmi dobré determinační znaky, listy takové znaky nenesou, jsou velmi variabilní co do tvaru i velikosti, a proto je určování sterilních lodyh velmi nespolehlivé. Navržený klíč se tedy opírá především o znaky na květech a plodech a listy zcela vynechává. Viz také přílohu 3

- C lístky fialové až červenofialové, ostruha tmavě fialová, tmavší než C lístky; mediánní (dolní) korunní lístek s (8–)12–16(–26) $\pm$ nevětvenými žilkami, mezi žilkami ve střední části korunního lístku výrazně tmavá skvrna; přívěsky K lístků za květu (0,4–)0,6–1,1(–1,5) mm dlouhé, za plodu < 1,5 mm dlouhé; K lístky (3,5–)5,8–9,5(–12) mm dlouhé; tobolky z chasmogamických květů (7–)9–11(–14) mm dlouhé, s (2–)10–18(–28) semeny; tobolky z kleistogamických květů (6–)8–10(–12) mm dlouhé, s (2–)8–12(–23) semeny; postranní korunní lístky kopinaté nebo vejčité, koruny i za květu polootevřené ... *Viola reichenbachiana*
- C lístky fialové až červenofialové, ostruha většinou fialová; mediánní (dolní) korunní lístek s (19–)22–30(–39) bohatě větvenými žilkami, mezi žilkami ve střední části korunního lístku tmavá skvrna; přívěsky K lístků za květu (0,4–)1–1,5(–1,7) mm dlouhé; K lístky (4,5–)8–11,5(–14) mm dlouhé; rostliny téměř sterilní, tobolky z chasmogamických květů se obvykle nevyvíjejí, tobolky z kleistogamických květů většinou abortované, vzácně deformované, s 1–2 semeny... *Viola reichenbachiana* $\times$ *V. riviniana*
- C lístky fialové až modrofialové, ostruha světle fialová až bílá, světlejší než C lístky; mediánní (dolní) korunní lístek s (14–)20–28(–43) bohatě větvenými žilkami, mezi žilkami ve střední části korunního lístku světle fialové až bílé okolí; přívěsky K lístků za květu (0,5–)1–1,9(–3,6) mm dlouhé, za plodu > 2 mm dlouhé; K lístky (3,8–)6,5–12,5(–16,5) mm dlouhé; tobolky z chasmogamických květů (7–)11–13(–16) mm dlouhé, s (4–)15–27(–42) semeny; tobolky z kleistogamických květů (5–)9–11(–14) mm dlouhé, s (6–)13–19(–23) semeny; postranní korunní lístky široce kopinaté nebo vejčité, koruny za plného květu otevřené do plochy ... *Viola riviniana*

Použitá literatura

- Ballard H. E., Sytsma K. J. & Kowal R. R. (1999): Shrinking the violets: phylogenetic relationships of infrageneric groups in *Viola* (*Violaceae*) based on internal transcribed spacer DNA sequences. – *Syst. Bot.* 23: 439–458.
- Becker W. (1910): *Violae europaeae*. – Dresden.
- Dafni A. (1992): *Pollination Ecology: Practical Approach*. – Oxford University Press, Oxford.
- Dafni A., Hesse M., Pacini E. [eds] (2000): *Pollen and pollination* – Springer Verlag, Wien
- Erlinghagen F. (2004): Spatial and temporal population dynamics and morphology of a violet hybrid in polluted pine forests of the Dübener Heide (Saxony-Anhalt). – URL: http://www.friederikeerlinghagen.de/vita_3_abstract.php (9. 5. 2008).
- Christensen E. (2002): *Viola reichenbachiana* Boreau und *Viola riviniana* Rchb. (Wald- und Hainveilchen). – *Rundbr. Bot. Erfass. Kreises Plön (Nord-Teil)* 1: 23–29.
- Fischer M. A. & Karrer G. (2005): Familie Veilchengewächse / *Violaceae*. – In: Fischer M. A. [ed.], *Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol*, ed. 2: 428–434, Biologiezentrum der OÖ Landesmuseen, Linz.
- Fothergill Ph. G. (1944): Studies in *Viola* IV. The somatic cytology and taxonomy of our British species of the genus *Viola*. – *New Phytol.* 43: 23–35.
- Gadella T. W. J. (1963): A cytotaxonomic study of *Viola* in the Netherlands. – *Acta Bot. Neerl.* 12: 17–39.
- Harmaja H. (2003): A deviating cytotype of *Viola riviniana* from Finland. – *Ann. Bot. Fenn.* 40: 395–400.
- van den Hof K., van den Berg R. G. & Gravendeel B. (2008): Chalcone synthase gene lineage diversification confirms allopolyploid evolutionary relationships of European rostrate violets. – *Mol. Biol. Evol.* 25: 2099–2108.
- Heppenstrick D. (2009): Tracing allopolyploid evolution with microsatellites in *Viola* Ms. [Dipl. pr.; depon. In: knihovna Ústavu botaniky a zoologie Přírod. Fak. Masaryk. Univ., Brno]
- Hultén E. & Fries M. (1986): *Atlas of north European vascular plants north of the Tropic of Cancer*. Vol. 2. – Koeltz Scientific Books, Königstein.
- Jäger E. & Werner K. (2002): *Exkursionsflora von Deutschland*. Vol. 4. *Gefäßpflanzen: Kritischer Band*. Ed. 9. – Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg & Berlin.
- Karlsson Th. & Marcussen Th. [eds] (2009): *Viola* L. – In: *Flora Nordica* 6 (veřejná recenze; URL: <http://www.floranordica.org/publicreview/publicreview.html>; 27. 3. 2009).
- Kirschner J. & Skalický V. (1990): *Viola* L. – violka. – In: Hejný S. & Slavík B. [eds], *Květena České republiky* 2: 394–431, Academia, Praha.
- Konečný J. (2007): Pylová viabilita u středoevropských druhů rodu *Cirsium* a jejich kříženců. – Ms. [Dipl. pr.; depon. In: knihovna Ústavu botaniky a zoologie Přírod. Fak. Masaryk. Univ., Brno]
- Marhold K., Mártonfi P., Mered'a P. jun. & Mráz P. (2007): Chromosome number survey of the ferns and flowering plants of Slovakia. – *Veda*, Bratislava.
- Meusel H., Jäger E., Rauschert S. & Weinert E. (1978): *Vergleichende Chronologie der zentraleuropäischen Flora*. – Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Moore D. M. & Harvey M. J. (1961): Cytogenetic relationships of *Viola lactea* Sm. and other West European arosulate violets. – *New Phytol.* 60: 85–94.
- Mráz P. [ed.] (2006): Chromosome number and DNA ploidy level reports from central Europe – 2. – *Biologia* 61: 115–119.
- Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. – In: Crissman H. A. & Darzynkiewicz Z. [eds], *Methods in cell biology*, Vol. 33: 105 – 110, Academic Press, New York

- Pazourková Z. & Pazourek J. (1960): Rychlé metody botanické mikrotechniky. – Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Rich T. C. G. & Jermy A. C. [eds] (1998): Plant Crib 1998. – Botanical Society of the British Isles, London.
- Schmidt A. (1961): Zytotaxonomische Untersuchungen an europäischen *Viola*-Arten der Sektion *Nomimium*. – Österr. Bot. Z. 108: 20–88.
- Schöfer G. (1954): Untersuchungen über die Polymorphie einheimischer Veilchen. – Planta 43: 537–565.
- Trees-Frick I. (1993): Karyologische und morphologische Untersuchungen an *Viola reichenbachiana* Jord. ex Boreau und *Viola riviniana* Rchb. – Mitt. Naturforsch. Ges. Bern, ser. nova, 50: 81–98.
- Valentine D. H. (1950): The experimental taxonomy of two species of *Viola*. – New Phytol. 49: 193–212.
- Valentine D. H. (1941): Variation in *Viola riviniana*. – New Phytol. 40: 189–209.
- Valentine D. H. (1975): *Viola* L. – In: Stace C. A. [ed.], Hybridization and the flora of the British isles, Academic Press, London, New York & San Francisco.

Příloha 1

Seznam populací v kultuře

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V01/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	20	CZ, distr. Pardubice, Pardubice-Nemošice: Nemošická stráň, nad pravým břehem Chrudimky 1,73 km JV od kostela v Pardubičkách, podrost dubohabrového lesa; 230 m s. m.	50° 00' 59" N	15° 48' 34" E	6.4.2008	J. Danihelka
V01/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V01/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V01/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V01/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V01/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V02/1	<i>Viola riviniana</i>	40	CZ, distr. Pardubice, Pardubice-Nemošice: Nemošická stráň, nad pravým břehem Chrudimky ca 1,37 km JV od kostela v Pardubičkách, podrost dubohabrového lesa; 230 m s. m.	50° 01' 07" N	15° 48' 24" E	6.4.2008	J. Danihelka
V02/2	<i>Viola riviniana</i>	8x					
V02/3	<i>Viola riviniana</i>	40, 4x					
V02/4	<i>Viola riviniana</i>						
V02/5	<i>Viola riviniana</i>						
V02/6	<i>Viola riviniana</i>	8x					
V03/1	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	30	CZ, distr. Pardubice, Pardubice-Nemošice: Nemošická stráň, nad pravým břehem Chrudimky ca 1,50 km JV od kostela v Pardubičkách, podrost dubohabrového lesa; 230 m s. m.	50° 01' 04" N	15° 48' 27" E	6.4.2008	J. Danihelka
V03/2	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	30, 3x					
V03/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V03/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V04/1	<i>Viola riviniana</i>	40, 4x	CZ, distr. Pardubice, Srch-Hrádek: les 1,65 km SZ od křižovatky ve středu vsi a 0,9 km Z od silničního nadjezdu v místě zvaném Boudy, kraj mladšího dubového lesa u cesty, na písku; 220 m s. m.	50° 05' 16" N	15° 42' 37" E	31.3.2008	J. Danihelka
V04/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V04/3	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V04/4	<i>Viola riviniana</i>	40, 4x					
V04/5	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V05/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Semily, Košťálov: vrch Na křibu (nad bývalým statkem Kamínka) 2,1 km (SSZ–)S od kostela na návsi, smíšený les; 550 m s. m.	50° 35' 25" N	15° 24' 01" E	30.3.2008	J. Danihelka
V05/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V05/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V05/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V05/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V05/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V06/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	20	CZ, distr. Břeclav, Milovice: rezervace Křivé jezero, les 2,06 km V od kostela v Milovicích, dubohabřina na nízkém hlinitém hrůdu; 175 m s. m.	48° 51' 11" N	16° 43' 33" E	10.4.2008	R. Hédli
V06/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V06/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V06/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V06/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V06/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V07/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Vyškov, Slavkov: les Obora v severní části města, 0,8 km S od kostela, podrost dubohabřiny; 250 m s. m.	49° 09' 47" N	16° 52' 35" E	13.4.2008	D. Blažková
V07/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V07/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V07/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V07/5	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V07/6	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V08/1	<i>Viola riviniana</i>		CZ, distr. Brno, Brno-Řečkovice: jihovýchodní úpatí vrchu Baba, 1,8 km ZSZ od kostela ve starých Řečkovících, kraj listnatého lesa mezi polem a plotem; 340 m s. m.	49° 15' 05" N	16° 36' 50" E	17.4.2008	J. Danihelka
V08/2	<i>Viola riviniana</i>						
V08/3	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V08/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V08/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V09/1	<i>Viola riviniana</i>	40	CZ, distr. Brno, Brno-Řečkovice: jihovýchodní úpatí vrchu Baba, 1,8 km ZSZ od kostela ve starých Řečkovících, kraj lesa nad zahrádkami (nad chatovou osadou); 340 m s. m.	49° 15' 05" N	16° 34' 54" E	17.4.2008	J. Danihelka
V09/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V09/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V09/4	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V09/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V10/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	20	CZ, distr. Třebíč, Moravské Budějovice: javorový háj u silnice 420 m J od kóty Lukovská hora, 1,45 km SSZ od železniční stanice, větší kolonie v podrostu lesa; 500 m s. m.	49° 04' 11" N	15° 46' 06" E	20.4.2008	P. Šmarda
V10/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V10/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V10/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V10/5	<i>Viola riviniana</i>	4x					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V10/6	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V10/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V10/8	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V10/9	<i>Viola riviniana</i>	40					
V10/10	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V11/1	<i>Viola riviniana</i>	40	CZ, distr. Vyškov, Slavkov: les Obora v severní části města, 0,8 km S od kostela, podrost dubohabřiny; 250 m s. m.	49° 09' 47" N	16° 52' 35" E	20.4.2008	D. Blažková
V11/2	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	3x					
V11/3	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V11/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V11/5	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V12/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Plzeň-jih, Šťáhlavice: u silnice nad Nestlívským rybníkem, kulturní smrčina; 410 m s. m.	49° 39' 45" N	13° 35' 40" E	20.4.2008	J. Nová
V12/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V12/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V13/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		CZ, distr. Plzeň-jih, Šťáhlavice: poblíž zříceniny hradu Lopata, na skále pod smrkem; 430 m s. m.	49° 39' 47" N	13° 33' 19" E	20.4.2008	J. Nová
V13/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V13/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V14/1	<i>Viola riviniana</i>	4x	CZ, distr. Rokycany, Kornatice: plošina nad Kornatickým rybníkem, kulturní smrčina na skalnatém podkladu; 440 m s.	49° 40' 03" N	13° 34' 04" E	20.4.2008	J. Nová
V14/2	<i>Viola riviniana</i>	40					
V15/1	<i>Viola riviniana</i>	4x	CZ, distr. Plzeň-jih, Šťáhlavice: poblíž zříceniny hradu Lopata, kulturní smrčina?; 430 m s. m.	49° 39' 47" N	13° 33' 19" E	20.4.2008	J. Nová
V15/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V15/3	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V16/1	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x	CZ, distr. Hodonín, Javorník nad Veličkou: ochranné pásmo rezervace Machová, asi 600 m j. od železniční stanice Vrbovce, vysychavá louka; 400 m s. m.	48° 49' 08" N	17° 31' 00" E	20.4.2008	K. Fajmon
V16/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V16/3	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V16/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V16/5	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V16/6	<i>Viola riviniana</i>	40					
V16/7	<i>Viola riviniana</i>						
V17/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Hodonín, Javorník nad Veličkou: kraj lesa asi 640 m j. od železniční stanice Vrbovce, kraj dubohabřiny; 400 m s. m.	48° 49' 07" N	17° 31' 01" E	20.4.2008	K. Fajmon
V17/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V17/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V17/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V17/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V17/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V17/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Hodonín, Javorník nad Veličkou: les asi 730 m j. od železniční stanice Vrbovce, podrost dubohabřiny; 400 m s. m.	48° 49' 04" N	17° 31' 00" E	20.4.2008	K. Fajmon
V18/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/3	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	3x					
V18/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/8	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V18/9	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	3x					
V19/1	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	40	CZ, distr. Hodonín, Javorník nad Veličkou: rezervace Machová, asi 2,5 km vjv. od železniční stanice Vrbovce, vysýchavá louka; 500 m s. m.	48° 49' 18" N	17° 31' 46" E	20.4.2008	K. Fajmon
V19/2	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V19/3	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V19/4	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V19/5	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V19/6	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V19/7	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V19/8	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x					
V20/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Rakovník, Křivoklát: rokle s potokem nad tratí u železniční zastávky, podrost bučiny; 250 m s. m.	50° 02' 17" N	13° 52' 07" E	24.4.2008	J. Danihelka
V20/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V20/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V20/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V20/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V21/1	<i>Viola riviniana</i>	4x	CZ, distr. Rakovník, Roztoky: u silnice ca 400 m S od Leotýnského zámku, kraj smíšeného lesa a silniční příkop; 460 m s. m.	50° 00' 01" N	13° 53' 41" E	24.4.2008	J. Danihelka
V21/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V21/3	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V21/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V21/5	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V21/6	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V21/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V21/8	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V21/9	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V22/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Benešov, Benešov-Konopiště: zámecký park zámku Konopiště, v řídkém listnatém lese na různých místech parku; 360 m s. m.	49° 46' 40" N	14° 39' 30" E	24.4.2008	J. Danihelka
V22/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V22/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V22/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V22/5	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	3x					
V22/6	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V22/7	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V22/8	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30					
V22/9	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V22/10	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V22/11	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V22/12	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V22/13	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V22/14	<i>Viola reichenbachiana x V. riviniana</i>						
V22/15	<i>Viola reichenbachiana x V. riviniana</i>	3x					
V22/16	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V22/17	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V23/1	<i>Viola riviniana</i>	4x	CZ, distr. Praha, Praha-Újezd: rezervace Miličovský les a rybníky, v lese poblíž pěšiny, okraj dubohabřiny; 280 m s. m.	50° 01' 16" N	14° 32' 51" E	23.4.2008	P. Petřík
V23/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V23/3	<i>Viola riviniana</i>						
V23/4	<i>Viola riviniana</i>						
V23/5	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V23/6	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V24/1	<i>Viola</i>	4x	CZ, distr. Česká Lípa, Hamr na Jezeře: vrch Hamerský špičák, na temeni jižně od vrcholu, ; 450 m s. m.	50° 41' 22" N	14° 51' 04" E	24.4.2008	K. Boublík
V24/2	<i>Viola riviniana Rchb</i>	40					
V25/1	<i>Viola riviniana</i>	40	CZ, distr. Česká Lípa, Hamr na Jezeře: vrch Kozí hřbet, zalesněný vrchol hřbetu, buková doubrava; 420 m s. m.	50° 41' 00" N	14° 49' 50" E	24.4.2008	P. Petřík
V25/2	<i>Viola riviniana</i>						
V25/3	<i>Viola riviniana</i>						
V25/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V25/5	<i>Viola riviniana</i>						
V26/1	<i>Viola canina x V. riviniana</i>		CZ, distr. Blansko, Kořenec: 0,7 km ZSZ od kaple ve východní části vsi, břeh u cesty; 610 m s. m.	49° 31' 49" N	16° 45' 13" E	4.5.2008	V. Řehořek
V26/2	<i>Viola x</i>	3x					
V26/3	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V26/4	<i>Viola reichenbachiana x V. riviniana</i>						
V26/5	<i>Viola reichenbachiana x V. riviniana</i>	30					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V26/6	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	3x					
V26/7	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V26/8	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V26/9	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V26/10	<i>Viola</i>	2x					
V26/11	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V26/12	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V26/13	<i>Viola</i>						
V27/1	<i>Viola riviniana</i>		CZ, distr. Znojmo, Horní Břečkov-Čížov: podél silnice Čížov – Hardegg 1,7–2,4 km J–JJZ od kaple ve vsi, banket lesní silnice; 380–415 m s. m.	48° 51' 42" N	15° 51' 51" E	5.5.2008	J. Danihelka
V27/2	<i>Viola riviniana</i>						
V27/3	<i>Viola riviniana</i>						
V27/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V27/5	<i>Viola riviniana</i>						
V28/1	<i>Viola riviniana</i>	40	CZ, distr. Vyškov, Bučovice-Kloboučky: podél lesní cesty údolím potoka Slepice jihovýchodně od vsi, ca 2,6 km JZ od kostela v Nevojicích, dubohabřina; 250–260 m s. m.	49° 07' 00" N	17° 01' 25" E	3.5.2008	O. Rotreklová
V28/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V28/3	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V28/4	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V28/5	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V29/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	CZ, distr. Vyškov, Bučovice-Kloboučky: podél lesní cesty údolím potoka Slepice jihovýchodně od vsi, ca 2,6 km JZ od kostela v Nevojicích; 250–260 m s. m.	49° 07' 00" N	17° 01' 25" E	3.5.2008	O. Rotreklová
V29/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V29/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V29/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V29/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V30/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		CZ, distr. Brno-venkov, Čebín: vrch Čebínka, 0,85 km SV kostela v obci, 130 m J od rozhledny na vrcholu kopce Čebínka, obě běžně, pás dubohabřiny při okraji paseky; 430 m s. m.	49° 19' 09" N	16° 29' 06" E	4.5.2008	P. Šmarda
V30/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V30/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V30/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V30/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V30/6	<i>Viola riviniana</i>						

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V30/7	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V30/8	<i>Viola riviniana</i>	3x					
V30/9	<i>Viola riviniana</i>						
V30/10	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>						
V30/11	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>						
V30/12	<i>Viola riviniana</i>						
V30/13	<i>Viola riviniana</i>						
V31/1	<i>Viola canina</i> x <i>V. riviniana</i>	4x	CZ, distr. Hodonín, Javorník nad Veličkou: rezervace Machová, ca 1,5 km V–VSV od železniční stanice Vrbovce, polostinná vysychavá louka; 510 m s. m.	48° 49' 32" N	17° 32' 13" E	8.5.2008	K. Fajmon
V31/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					
V32/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	Lower Austria, distr. Neunkirchen, : kraj lesa asi 1 km Z od kóty 1455 (Grüner Sattel), kraj dubohabřiny; 900 m s. m.	47° 44' 49" N	15° 42' 08" E	9.5.2008	D. Blažková
V32/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V32/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V32/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V33/1	<i>Viola</i>	2x	Lower Austria, distr. Neunkirchen, Hinternaßwald: kraj lesa			10.5.2008	D. Blažková
V34/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	20	Lower Austria, distr. Neunkirchen, Hinternaßwald: 4 km ZSZ od kóty 1455 (Grüner Sattel), v křovinách; 700 m s. m.	47° 45' 44" N	15° 41' 41" E	10.5.2008	D. Blažková
V34/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V34/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x					
V35/1	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30	Lower Austria, distr. Neunkirchen, Prein an der Rax: podél cesty asi 1,8 km J od kóty 1783 (Schrockenfuxkreuz), smrkový les; 1020 m s. m.	47° 41' 10" N	15° 43' 57" E	11.5.2008	D. Blažková
V35/2	<i>Viola</i>						
V36/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2x	Lower Austria, distr. Neunkirchen, Prein an der Rax: podél cesty asi 2 km J od kóty 1783 (Schrockenfuxkreuz), křoviny;	47° 41' 10" N	15° 43' 57" E	11.5.2008	D. Blažková
V36/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	20					
V37/1	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30	Lower Austria, distr. Neunkirchen, Prein an der Rax: podél cesty asi 2 km J od kóty 1783 (Schrockenfuxkreuz), křoviny;	47° 41' 10" N	15° 43' 57" E	11.5.2008	D. Blažková
V37/2	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30	Lower Austria, distr. Neunkirchen, Prein an der Rax: podél cesty asi 2 km J od kóty 1783 (Schrockenfuxkreuz), křoviny;	47° 41' 10" N	15° 43' 57" E	11.5.2008	D. Blažková
V38/1	<i>Viola riviniana</i>	4x	CZ, distr. Rakovník, Karlova Ves: 1,3 km V od hájenky Emilovna, okraj lesní cesty; 450 m s. m.	49° 59' 09" N	13° 51' 10" E	13.5.2008	P. Petřík, K.
V38/2	<i>Viola riviniana</i>	4x					

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V38/3	<i>Viola riviniana</i>	40					
V38/4	<i>Viola riviniana</i>						
V38/5	<i>Viola riviniana</i>						
V38/6	<i>Viola riviniana</i>	40					
V39/1	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>	30	CZ, distr. Brno, Vysoké Popovice: les v údolí potoka 0,8 km SSV od kostela ve vsi, v podrostu listnatého lesa; 460 m s. m.	49° 11' 16" N	16° 17' 37" E	22.6.2008	J. Danihelka
V42/1	<i>Viola riviniana</i>		Norway, distr. Oslo county, Oslo: Gaustad hospital, S-facing slope on Cambro-silurian bedrock, mixed forest / mantel vegetation, rocky outcrops; Fraxinus excelsior, Picea abies, Rosa sp.; 141 m s. m.	59° 57' 08" N	10° 43' 11" E	19.10.2008	Th. Marcussen
V42/2	<i>Viola riviniana</i>						
V42/3	<i>Viola riviniana</i>						
V42/4	<i>Viola riviniana</i>						
V43/1	<i>Viola riviniana</i>		Norway, distr. Oslo county, Oslo: Gaustad hospital, S-facing slope on Cambro-silurian bedrock, mixed forest / mantel vegetation, rocky outcrops; Fraxinus excelsior, Picea abies, Rosa sp.; 141 m s. m.	59° 57' 08" N	10° 43' 11" E	19.10.2008	Th. Marcussen
V43/2	<i>Viola riviniana</i>						
V43/3	<i>Viola riviniana</i>						
V44/1	<i>Viola riviniana</i>		Italy, Lazio, Manziana: les Macchia di Manziana, mezická doubrava s Quercus cerris a Q. frainetto	42°07'14" N	12°07'00" E	1.3.2009	J. Roleček
V44/2	<i>Viola riviniana</i>						
V45/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		Italy, Lazio, Canale Monterano: přírodní rezervace Riserva Naturale di Monterano, mezická dubohabřina s Carpinus betulus	42°07'59" N	12°05'07" E	1.3.2009	J. Roleček
V45/2	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V45/3	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V45/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V46/1	<i>Viola suavis</i>		Norway			1.4.2009	Th. Marcussen
V46/2	<i>Viola suavis</i>						
V46/3	<i>Viola suavis</i>						
V47/1	<i>Viola riviniana</i>		Slovensko, distr. Bánovec nad Bebravou, Krásná Ves: údolí proti přírodní rezervaci Smradlavý vrch, dubohabřina, 301 m n. m.	48°48'59" N	18°15'20" E	1.4.2009	V. Grulich
V47/2	<i>Viola reichenbachiana</i> x <i>V. riviniana</i>						
V47/3	<i>Viola mirabilis</i> x <i>V. reichenbachiana</i>						
V47/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V47/5	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V47/6	<i>Viola mirabilis</i>						

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V48/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		France, distr. Alpes Maritimes, Grasse, dubohabřina, 15 km J od kóty 1778 Cime du Cheiron, 440 m s. m.	43°41'05" N	06°49'51" E	11.5.2009	D. Blažková
V48/2	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/3	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/5	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/6	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/7	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/8	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V48/9	<i>Viola</i>						
V48/10	<i>Viola</i>						
V49/1	<i>Viola hirta</i>		France			11.5.2009	D. Blažková
V50/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		Switzerland, Saint Cergue, okraj list. lesa u silnice, 10 km Z od jezera Lemán, 800 m s. m.	46°27'94" N	06°09'08" E	16.5.2009	D. Blažková
V50/2	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V50/3	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V50/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V51/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		Switzerland, Saint Cergue, okraj list. lesa u silnice, 10 km Z od jezera Lemán, 800 m s. m.	46°27'94" N	06°09'08" E	16.5.2009	D. Blažková
V51/2	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V51/3	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V51/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V51/5	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		Switzerland, Saint Cergue, okraj list. lesa u silnice, 10 km Z od jezera Lemán, 800 m s. m.	46°27'94" N	06°09'08" E	16.5.2009	D. Blažková
V52/2	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/3	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/5	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/6	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/7	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/8	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V52/9	<i>Viola reichenbachiana</i>						

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V53/1	<i>Viola mirabilis</i> x <i>V. reichenbachiana</i>		CZ, distr. Brno-měst, Brno-Líšeň, rezervace Hádecká planinka, podrost dubohabřiny 0,3 km od vrcholové kóty vrchu Hády, 424 m n. m.	49°13'27" N	16°40'39" E	14.6.2009	J. Danihelka
V54/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		Ukrajina, Zakarpatská oblast, Ust'-Čorna, les nad městečkem, asi 0,5 km JJZ-J od kostela, v lesním podrostu, 593 m n. m.	48°19'13" N	23°56'15" E	1.7.2009	J. Šumbera
V54/2	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V54/3	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V54/4	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V54/5	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V54/6	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V54/7	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V54/8	<i>Viola reichenbachiana</i>						
V55/1	<i>Viola</i>		Černá Hora, Durmitor, Žabljak, okolí tábořiště Razvršje, 1,3 km JZ od středu obce, u cesty v rozvolněném jehličnatém lese, 1550 m n. m.	43°08'41" N	19°06'47" E	31.7.2009	J. Danihelka
V55/2	<i>Viola</i>						
V55/3	<i>Viola</i>						
V55/4	<i>Viola</i>						
V55/5	<i>Viola</i>						
V55/6	<i>Viola</i>						
V55/7	<i>Viola</i>						
V55/8	<i>Viola</i>						
V55/9	<i>Viola</i>						
V55/10	<i>Viola</i>						
V55/11	<i>Viola</i>						
V55/12	<i>Viola</i>						
V55/13	<i>Viola</i>						
V56/1	<i>Viola riviniana</i>		Germany, obl. Dübener Heide, distr. Anhalt-Bitterfeld, Muldestausee-Rösa, Rösa, les u silnice, 3,1 km Z-ZSZ od středu vsi, kulturní bor s příměsí listnáčů, 113 m n. m.	51°37'20" N	12°027'07" E	7.8.2009	J. Danihelka
V56/2	<i>Viola riviniana</i>						
V56/3	<i>Viola riviniana</i>						
V56/4	<i>Viola riviniana</i>						
V56/5	<i>Viola riviniana</i>						
V56/6	<i>Viola riviniana</i>						

Číslo	Druh	Ch	Lokalita	Zem. šířka	Zem. délka	Dat. sběru	Sběratel
V56/7	<i>Viola riviniana</i>						
V56/8	<i>Viola riviniana</i>						
V56/9	<i>Viola riviniana</i>						
V56/10	<i>Viola riviniana</i>						
V56/11	<i>Viola riviniana</i>						
V56/12	<i>Viola riviniana</i>						
V56/13	<i>Viola riviniana</i>						
V56/14	<i>Viola riviniana</i>						
V56/15	<i>Viola riviniana</i>						
V56/16	<i>Viola riviniana</i>						
V56/17	<i>Viola riviniana</i>						

Příloha 2

Ploidní úroveň a chromozomový počet

kód	druh	ploidní úroveň	počet chromozomů
V01/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V01/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V01/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V01/4	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V01/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V01/6	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V02/1	<i>Viola riviniana</i>		40
V02/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V02/3	<i>Viola riviniana</i>	4×	40
V02/6	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V03/1	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V03/2	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	30
V03/3	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V03/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V04/1	<i>Viola riviniana</i>	4×	40
V04/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V04/3	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V04/4	<i>Viola riviniana</i>	4×	40
V04/5	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V05/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V05/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V05/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V05/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V05/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V05/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V06/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V06/2	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V06/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V06/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V06/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V06/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V07/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V07/2	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V07/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V07/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V07/5	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V07/6	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V08/3	<i>Viola riviniana</i>		20
V08/4	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V08/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V09/1	<i>Viola riviniana</i>		40
V09/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V09/3	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V09/4	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V09/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V10/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V10/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V10/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	

kód	druh	ploidní úroveň	počet chromozomů
V10/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V10/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	4×	
V10/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	4×	
V10/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V10/8	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V10/9	<i>Viola riviniana</i>		40
V10/10	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V11/1	<i>Viola riviniana</i>		40
V11/2	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	
V11/3	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V11/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V12/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V12/2	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V12/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V13/2	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V13/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V14/1	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V14/2	<i>Viola riviniana</i>		40
V15/1	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V15/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V15/3	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V16/1	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V16/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V16/3	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V16/4	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V16/5	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V16/6	<i>Viola riviniana</i>		40
V17/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V17/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V17/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V17/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	4×	
V17/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V17/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V17/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/3	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	
V18/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/6	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/8	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V18/9	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	
V19/1	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>		40
V19/2	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V19/3	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V19/4	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V19/5	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V19/6	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V19/7	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V19/8	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V20/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	

kód	druh	ploidní úroveň	počet chromozomů
V20/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	30
V20/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V20/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V20/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V21/1	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V21/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V21/3	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V21/4	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V21/5	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V21/6	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V21/7	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V21/8	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V21/9	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V22/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V22/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V22/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V22/4	<i>Viola riviniana</i>	2×	
V22/5	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	
V22/6	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V22/8	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		
V22/9	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V22/10	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V22/11	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	40
V22/12	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V22/13	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V22/15	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	
V22/17	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V23/1	<i>Viola riviniana</i>	4×	40
V23/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V23/5	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V23/6	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V24/1	<i>Viola</i>	4×	40
V24/2	<i>Viola riviniana</i>		
V25/1	<i>Viola riviniana</i>		40
V25/4	<i>Viola riviniana</i>	4×	30
V26/2	<i>Viola</i> ×	3×	
V26/3	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V26/5	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		
V26/6	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	3×	
V26/7	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V26/8	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V26/9	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V26/10	<i>Viola</i>	2×	
V26/11	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V27/4	<i>Viola riviniana</i>	4×	40
V28/1	<i>Viola riviniana</i>		
V28/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V28/3	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V28/4	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V28/5	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V29/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	40
V29/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	

kód	druh	ploidní úroveň	počet chromozomů
V29/3	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V29/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V29/5	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V30/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V30/3	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V30/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V30/5	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V30/7	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V30/8	<i>Viola riviniana</i>	3×	
V31/1	<i>Viola canina</i> × <i>V. riviniana</i>	4×	
V31/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V32/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V32/2	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V32/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V32/4	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V33/1	<i>Viola</i>	2×	
V34/1	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V34/2	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V34/3	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V35/1	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V36/1	<i>Viola reichenbachiana</i>	2×	
V36/2	<i>Viola reichenbachiana</i>		20
V37/1	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V37/2	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30
V38/1	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V38/2	<i>Viola riviniana</i>	4×	
V38/3	<i>Viola riviniana</i>		40
V38/6	<i>Viola riviniana</i>		40
V39/1	<i>Viola reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>		30

Příloha 3

Klíč k určení kvetoucích a plodných rostlin

znak	<i>Viola reichenbachiana</i>	<i>V. reichenbachiana</i> × <i>V. riviniana</i>	<i>Viola riviniana</i>
květy	celkově menší, c. lístky úzké, všechny květní části menší než u druhu <i>V. riviniana</i>	velikostí i tvarem se více podobají druhu <i>V. riviniana</i> , avšak barevně odpovídají druhu <i>V. reichenbachiana</i>	celkově větší, c. lístky široké, všechny květní části větší než u druhu <i>V. reichenbachiana</i>
barva korunních lístků	fialová až červenofialová	fialová až červenofialová	fialová až modrofialová
barva ostruhy	tmavě fialová	fialová	světle fialová až bílá
žilky na mediálním korunním lístku	žilky nevětvené, malý počet (8-) 12-16(-26), mezi žilkami tmavá skvrna	žilky bohatě větvené, velký počet (19-)22-30(-39), mezi žilkami světlejší skvrna	žilky bohatě větvené, velký počet (14-)20-28(-43), mezi žilkami světlé místo
přívěsky kališních lístků	přívěsky drobné, úzké, (0,4-) 0,6-1,1(-1,5) mm dlouhé, za plodu < 1,5 mm	přívěsky drobnější než u druhu <i>V. riviniana</i> , (0,4-)1-1,5(-1,7) mm dlouhé	přívěsky velké, široké, (0,5-)1-1,9(-3,6) mm dlouhé, za plodu > 2 mm
počet semen v tobolce	chasmogamické tobolky (2-) 10-18(-28); kleistogamické tobolky (2-)8-12(-23)	kříženci jsou sterilní, tobolky chasmogamických květů se nevytvářejí, kleistogamické květy jsou četné, avšak tobolky jsou deformované nebo se nevyvíjejí, pouze vzácně obsahují 1-2 semena	chasmogamické tobolky (4-)15-27(-42); kleistogamické tobolky (6-)13-19(-23)
délka tobolky	chasmogamické tobolky (7-)9-11(-14) mm; kleistogamické tobolky (6-)8-10(-12) mm		chasmogamické tobolky (7-)11-13(-16) mm; kleistogamické tobolky (5-)9-11(-14) mm