

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra pěstování lesů



Fakulta lesnická
a dřevařská

Morfologická a genetická variabilita v rámci rodu bříza

Disertační práce

Autor: Ing. Rostislav Linda

Školitel: doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

2021

ZADÁNÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

Ing. Rostislav Linda

Lesní inženýrství
Pěstování lesa

Název práce

Morfologická a genetická variabilita v rámci rodu bříza

Název anglicky

Morphological and genetic variability within genus Betula

Cíle práce

Posoudit morfologickou a genetickou variabilitu v rámci rodu bříza se zaměřením na některé mikrotaxony vylišované na území České republiky.

Práce se bude zaměřovat zejména na taxony s nejasným taxonomickým zařazením (např. bříza karpatská, bříza ojcovská aj.).

Metodika

Morfologická variabilita bude zhodnocena pomocí klasické morfometriky, tj. prostým měřením vylišených parametrů na listech jedinců kancelářským pravítkem a úhloměrem. Podobnosti v morfologii listů mezi jednotlivými taxony budou statisticky hodnoceny pomocí t-testu (či Wilcoxonova testu), případně pomocí jejich alternativ pro více proměnné a dále pomocí analýzy hlavních komponent. Molekulární analýzy (genetická variabilita) budou rozděleny na dvě analýzy – analýzu velikosti genomu, která bude provedena pomocí průtokové cytometrie a analýza mikrosatelitů pro zjištění genetické příbuznosti mezi zkoumanými taxony. Rozdíly ve velikosti genomu budou statisticky analyzovány pomocí analýzy variance či Kruskal-Wallisova testu. Genetická variabilita (analýza mikrosatelitů) bude provedena pomocí analýzy hlavních koordinát, F-statistiky, diskriminační analýzy hlavních komponent (DAPC) aj. Výsledky mohou být přímo uplatněny v praxi, například při provádění výsadby porostů přípravných dřevin v horských oblastech, kde se pro tyto účely používají tetraploidní břízy či při vytváření plánů péče o PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně.

Doporučený rozsah práce

alespoň 100 stran

Doporučené zdroje informací

- Ashburner K & McAllister HA (2013) The Genus *Betula*: A taxonomic revision of Birches. Kew Publishing, Richmond, Surrey.
- Atkinson MD & Codling AN (1986) A reliable method for distinguishing between *Betula pendula* and *B. pubescens*. *Watsonia* 16:75–87
- Ešnerová J, Karlík P, Zahradník D, Koňasová T, Stejskal J, Baláš M, Vítámvás J, Rašáková N, Stacho J, Kuthan J, Lukášová M & Kuneš I (2012) Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. *Zprávy lesnického výzkumu* 57:112–125.
- Gardiner AS (1972) A review of the sub-species *carpatica* and *tortuosa* within the species *betula pubescens* Ehrh. *Transactions of the Botanical Society of Edinburgh* 41:451–459.
- Kula E (2011) Bříza a její význam pro trvalý rozvoj lesa v imisních oblastech. Nakladatelství Lesnická Práce.
- Kulju KKM, Pekkinen M & Varvio S (2004) Twenty-three microsatellite primer pairs for *Betula pendula* (Betulaceae). *Molecular Ecology Notes* 4:471–473
- Tsuda Y, Ueno S, Ide Y & Tsumura Y (2009) Development of 14 EST-SSRs for *Betula maximowicziana* and their applicability to related species. *Conservation Genetics* 10:661–664.
-

Předběžný termín

2020/21 LS – FLD – Obhajoba DisP

Vedoucí práce

doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra pěstování lesů

Elektronicky schváleno dne 7. 2. 2020

prof. Ing. Vilém Podrázský, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 7. 2. 2020

doc. Ing. Jiří Remeš, Ph.D.

Předseda oborové rady

Elektronicky schváleno dne 30. 4. 2020

prof. Ing. Róbert Marušák, PhD.

Děkan

V Praze dne 16. 03. 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Morfologická a genetická variabilita v rámci rodu bříza“ vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací a doporučení školitele. Souhlasím se zveřejněním disertační práce dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Chlumu u Třeboně dne 17. 3. 2021

Podpis autora

Poděkování

Rád bych poděkoval všem, kteří přispěli k napsání této disertační práce, zejména doc. Ing. Ivanovi Kunešovi, Ph.D. za vedení práce, odborné rady a metodické vedení během doktorského studia a kolegům Janovi Cukorovi, Zdeňkovi Vackovi, Josefovi Gallovi a Martinovi Balášovi za cenné rady a spolupráci při přípravě publikací.

Poděkování dále patří RNDr. Ivaně Bufkové, Ph.D. (NP Šumava), Janovi Rot-hanzlovi (Krajský úřad Ústeckého kraje), Věře Fryčové (ZOO Chomutov), Aloisovi Pavlíčkovi (NP Šumava) za konzultace a pomoc při sběru vzorků a dále všem správám NP a CHKO, kde byl prováděn sběr vzorků za umožnění terénních prací.

Dále bych rád poděkoval Jarosławovi Paluchovi (Zemědělská univerzita v Krakově), Józefovi Mitkovi (Botanická zahrada Jagellonské univerzity v Krakově) a Jakubovi Baranovi (Ojcovský národní park) za cenné rady a pomoc při sběru vzorků z území Polska.

Za pomoc s genetickými analýzami bych dále rád poděkoval Tomášovi Urfusovi, Tomášovi Férovi (PřF UK) a Janovi Bílému (FLD ČZU).

Tato disertační práce byla vytvořena za podpory projektů CIGA ČZU (20104308): „Vztah populací břízy karpatské a typu stanoviště ve vrcholových horských polohách“, NAZV (QH 92087): „Funkční potenciál vybraných listnatých dřevin a jejich vnášení do jehličnatých porostů v Jizerských horách“ a TAČR (TH03030339): „Metody umělé reprodukce břízy ojcovské a postupy směřující k zachování její populace na území České republiky“. Poděkování taktéž patří Henrikovi Stuartovi, tvůrci použité L^AT_EX šablony.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat svým rodičům a blízkým přátelům za podporu během celého studia, bez které by tato práce nikdy nevznikla.

Abstrakt

Taxonomické dělení rodu bříza je obecně považováno za problematické a mnoho taxonů je zařazeno nejednoznačně, či je dokonce diskutována jejich existence (minimálně na úrovni druhu). Tyto nejasnosti se vyskytují i v případě některých bříz na území České republiky. Praktické zkušenosti ukazují na značnou morfológickou variabilitu domácích bříz a jednoznačná determinace určitých taxonů dle znaků uváděných v odborné literatuře se tak ukázala jako velmi problematická. Cílem předkládané práce je posouzení morfológické a genetické variability vybraných taxonů bříz na našem území a posouzení pozice některých domácích sporných taxonů rodu bříza (především břízy karpatské a břízy ojcovské).

Práce je rozdělena na dvě části: porovnání morfológické a genetické variability mezi diploidními a tetraploidními taxony bříz na území České republiky a analýza morfológické a genetické variability mezi populacemi břízy ojcovské v České republice a v Polsku. V případě břízy ojcovské byla analýza oddělena od zbytku vzorků kvůli testování příbuzností s populacemi v Polsku, odkud byla bříza ojcovská poprvé popsána.

Vzorkovaní jedinci (432 jedinců v případě analýzy morfológické a genetické variability diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza na našem území; 106 jedinců pro analýzu stejných vztahů mezi populacemi břízy ojcovské z České republiky a Polska) byli odebráni na lokalitách předem vybraných na základě dostupné odborné literatury.

Morfológická variabilita byla posouzena na základě měření listových parametrů doporučených v odborné literatuře. Statistické testování odhalilo významné rozdíly mezi listovými parametry di- a tetraploidních jedinců. Navržená klasifikační funkce pro předpověď ploidie jedince na základě těchto měření vykazovala spolehlivost až 93 %, což je nejvíce porovnávaných funkcí v minulosti navržených jinými autory (porovnáváno na datech získaných pro tuto práci).

Analýza morfológické variability listů tedy poukázala na možnost rozlišení di- a tetraploidních jedinců rodu bříza na základě měření listových parametrů, avšak spolehlivé rozlišení většiny taxonů v rámci každé ze skupin (di- a tetraploidní jedinci) pouze podle listových parametrů se kvůli vysoké morfológické variabilitě listů ukázalo jako neproveditelné, tedy s výjimkou břízy ojcovské, kde je však pro přesnou determinaci nutné zohlednit celkový habitus jedince, a dále s výjimkou diploidních „outlierových“ druhů (*B. nana* a *B. humilis*), kde je morfológická odlišnost patrná na první pohled. V případě užšího posouzení morfológické variability populací břízy ojcovské se ukázala pouze významná odlišnost údajného rodičovského druhu břízy ojcovské, kterým je dle dostupné literatury *B. szaferi*.

Analýza velikosti genomu ukázala na vyšší 1Cx hodnoty (tzn. vyšší velikost holoploidního genomu) v případě tetraploidních jedinců v porovnání s diploidními jedinci a také v případě *B. nana* v porovnání s *B. pendula*. Tyto odlišnosti mohou být vysvětleny příslušností *B. nana* k jiné taxonomické sekci v rámci rodu bříza. I přes statisticky významné rozdíly se odchylky ve velikostech holoploidního genomu pohybují v mezích, které jsou v případě jiných rodů běžně pozorovány v rámci jednoho druhu. V případě porovnání velikosti genomu břízy ojcovské nebyly prokázány žádné významné rozdíly mezi populacemi tohoto taxonu z České republiky a Polska. Byla nicméně zaznamenána určitá odlišnost ve velikosti holoploidního genomu břízy bělokoré vzorkované v České republice od ostatních srovnávaných populací (česká a polská populace břízy ojcovské, polská populace břízy bělokoré a pracovní skupiny jedinců s přechodnými znaky z České republiky a Polska). Uvedená odlišnost je pravděpodobně způsobena náhodnou populační variabilitou. Velikost holoploidního genomu *B. humilis* není v práci hodnocena.

Analýza genetických příbuzností odlišila v případě diploidních jedinců dle očekávání pouze vzorky *B. nana* a *B. humilis*, které se taxonomicky zařazují do odlišné sekce v porovnání s ostatními diploidními taxony. V případě tetraploidních jedinců nebyly identifikovány žádné geneticky odlišitelné skupiny. Genetická variabilita byla v obou případech studována pomocí analýzy mikrosatelitů.

Na základě zjištěných výsledků lze podpořit zařazení „břízy karpatské“ v nově uváděné tuzemské literatuře jako poddruh břízy pýřité, ačkoliv lze usuzovat na ještě nižší postavení tohoto taxonu v taxonomickém systému. Podobný závěr lze předběžně udělat i v případě břízy skalní, byť některá data týkající se tohoto taxonu čekají ještě na zpracování. Genetická neodlišitelnost břízy ojcovské od břízy bělokoré taktéž odpovídá novému zařazení uváděnému v domácí literatuře: *B. pendula* var. *ojcoviensis*.

Ačkoliv nedošlo u břízy ojcovské k jasnému genetickému odlišení (na úrovni druhu) od břízy bělokoré, lze se domnívat, že tento „zvláštní“ taxon si nadále zaslouží ochranu a další výzkum.

Klíčová slova: *Betula carpatica*, *B. ×oycoviensis*, morfometrika, průtoková cytometrie, mikrosatelity

Abstract

The taxonomic treatment of the birch genus is generally considered problematic and many its taxa are classified ambiguously, or even their existence is discussed (at least at the species level). These ambiguities are also related to several birches naturally occurring in the Czech Republic. Also, practical experience shows a considerable level of morphological variability of autochthonous birches. Therefore, the determination of some taxa based on parameters reported in professional literature is problematic. The work aims to assess the morphological and genetic variability of the taxa naturally occurring in the Czech Republic and evaluate the taxonomic position of some unresolved native representatives of the birch genus (mainly *Betula carpatica* and *B. ×oycoviensis*).

The thesis is divided into two parts: the comparison of morphological and genetic variability between diploid and tetraploid taxa of the birch genus in the Czech Republic and analysis of morphological and genetic variability between populations of Ojców birch in the Czech Republic and Poland. In the case of Ojców birch, the analysis was conducted separately to test for the relationships with the populations in Poland where Ojców birch was first described.

The samples (altogether 432 individuals for the analysis of morphological and genetic variability of diploid and tetraploid individuals of the birch genus in the Czech Republic and 106 individuals for the analysis of the same relationships between the Ojców birch populations from the Czech Republic and Poland, respectively) were collected on sites previously selected with the use of available professional literature.

Morphological variability was assessed using the leaf parameters recommended in the previously published literature. Statistical testing revealed significant differences between the leaf parameters of di- and tetraploid individuals. The proposed classification function for the prediction of ploidy of an individual based on these measurements showed the reliability of up to 93%, which is the best outcome of the compared functions, including those proposed by other authors (tested on data collected for this thesis).

Analysis of morphological variability revealed the possibility of distinguishing di- and tetraploid individuals of the birch genus based on leaf measurements. However, the distinction of particular birch taxa within each ploidy level (di- and tetraploid group) was, in most cases, proven impossible due to high morphological variability. The partial exception is *B. ×oycoviensis* that could be distinguished from *B. pendula* based on leaf parameters altogether with an assessment of habitus of the individual and also diploid "outlier" taxa (*B. humilis* and *B. nana*), which belong to another taxonomical section and their appearance is entirely different compared to the other analyzed diploid taxa. In the detailed assessment of the morphological variability of the Oyców birch populations, only *B. szaferi*, allegedly a parental species of "*B. ×oycoviensis*", showed significantly different leaf morphology from other studied taxa and "working groups".

Genome size analysis showed higher 1Cx values (i.e. higher holoploid genome size) of the tetraploid individuals compared to the diploid individuals. Within the diploids, *B. nana* showed higher 1Cx values compared to *B. pendula*, which can be explained by the affiliation of *B. nana* to another section within the birch genus. As for the genome size of the Oyców birch, no significant differences were observed between the populations of this taxon from the Czech Republic and Poland. However, the genome size of silver birch (*B. pendula*) from the Czech Republic slightly but significantly differed from Polish silver birch and Polish and Czech populations of Oyców birch. On the other hand, the variations in holoploid genome size are within limits commonly observed for a single species in other genera and the difference is probably due to random population variability. The genome size of *B. humilis* was not evaluated in the thesis.

The analysis of genetic relationships showed a significant difference of "outlier" taxa (*B. nana* and *B. humilis*) that are taxonomically classified into a different section than the other assessed birches. As for tetraploid individuals, we identified no genetically distinguishable groups. Genetic variability was studied in both cases by microsatellite analysis.

Based on our results, the inclusion of "Carpathian birch" in the latest literature as a subspecies of *B. pubescens* can be supported, although it is possible to infer an even lower position of this taxon in the taxonomic system. A similar proposal can be submitted regarding *B. petraea*, although more data are needed for drawing a solid conclusion. The genetic indistinguishability of *B. ×oycoviensis* from the *B. pendula* also supports its new classification in the latest Czech literature – as a variety of silver birch *B. pendula* var. *oycoviensis*.

Although there has been no clear genetic distinction of *B. ×oycoviensis* from *B. pendula* (at the species level), it can be assumed that this "special and rare" taxon still deserves protection and further research.

Keywords: *Betula carpatica*, *B. ×oycoviensis*, morphometrics, flow cytometry, microsattellites

Obsah

1 Úvod a rozbor problematiky	12
1.1 Rozšíření, ekologie a využití bříz	15
1.2 Popis domácích taxonů rodu bříza (<i>Betula</i> L.)	16
1.3 Taxonomické dělení rodu bříza	22
1.4 Využití bříz v lesnické praxi	30
2 Cíle práce	33
3 Metodika	34
3.1 Taxony zahrnuté do studie	34
3.2 Výběr vhodných lokalit pro vzorkování	37
3.3 Sběr vzorků	37
3.4 Uložení a skladování odebraného materiálu	39
3.5 Morfometrická měření	40
3.6 Cytometrická měření	42
3.7 Genetické analýzy	43
3.8 Statistické zpracování dat	44
4 Výsledky	50
4.1 Analýza morfologických parametrů měřených na listech jedinců	50
4.2 Analýza velikosti genomu	60
4.3 Analýza mikrosatelitů (analýza genetické variability)	62
5 Diskuse	72
5.1 Morfologická variabilita mezi diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza na území ČR	74
5.2 Morfologická variabilita populací břízy bělokoré a břízy ojcovské z území ČR a Polska	76

5.3	Analýza velikosti genomu	78
5.4	Analýza genetických příbuzností mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza na území Českého masivu	80
5.5	Analýza genetických příbuzností mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré na území ČR a Polska	81
6	Závěr	83
	Reference	85
	Příloha	102

Úvod a rozbor problematiky

Počátky moderní taxonomie (vědy zabývající se klasifikací organismů, z řeckého *taxis* – uspořádat; *nómos* – zákon) lze datovat do roku 1735, kdy švédský biolog Carl von Linné publikoval první vydání eseje *Systema naturae* – práce, která zavedla principy využívané v taxonomii organismů dodnes. Na poli botaniky je pak stěžejním dílem kniha *Species plantarum* (1753) stejného autora, kde Linné poprvé zařazuje tehdy známé rostlinné druhy (cca 1 300 druhů) do systému živých organismů (Stace, 1989; Crane a Pleasants, 2006).

Všeobecného uznání jako vědy se taxonomie rostlin dočkala až v 60. a 70. letech minulého století, kdy Davis a Heywood (1963) nebo např. Radford (1974) představili nové teoretické koncepty pro klasifikaci rostlin a došlo tak k jakési „aktualizaci“ taxonomie; reagovali tak na objevy na poli biologie v 50. letech 20. století, kdy do taxonomie pronikly vědecké postupy, které postupně převažovaly nad subjektivními, či intuitivními metodami (Crane a Pleasants, 2006).

Vědecké přístupy k taxonomii velmi rychle vyústily v potřebu kvantifikovat vztahy mezi jednotlivými organismy a již v 70. letech 20. století se objevovaly pojmy jako „numerická taxonomie“. Přístup numerické taxonomie přinesl nové metody, související s rychle se vyvíjejícími výpočetními technologiemi a objevem molekulárních metod (Crane a Pleasants, 2006), např. objev PCR (Eeles et al., 1992), a tento přístup víceméně stále trvá.

S přibývajícími možnostmi studia taxonomického systému živých organismů vyzruly nové otázky ohledně zařazení některých taxonů (Stace, 1989; Wheeler, 2004), jsou stále popisovány nové druhy (Wilson, 2004; Mora et al., 2011) či jsou na úroveň

druhů posouvány nižší taxonomické jednotky (Isaac et al., 2004). Využití molekulárních metod přineslo enormní množství nových dat, díky kterým došlo k zásadním změnám v počtu rozlišovaných taxonomických skupin (Stuessy, 2006).

Taxonomické dělení rodu bříza (*Betula* L.) je i přes významný pokrok molekulárních metod v posledních letech stále nedořešenou otázkou (Ashburner a McAllister, 2013; Grimm a Renner, 2013; Buriánek et al., 2014). První ucelený taxonomický přehled rodu bříza uvedl Eduard Regel v roce 1865 (Regel, 1865 in Schenk et al., 2008), kdy rozdělil rod bříza do dvou podrodů, které se dále dělily do sedmi sekcí (v té době nazývaných jako oddělení). Toto rozdělení bylo významněji modifikováno o 50 let později C. K. Schneiderem (Schneider, 1915 in Skvortsov, 2002), a to rozdělením sekce sdružující exotické druhy z oblasti východní Asie, které byly E. Regelem zahrnuty do jedné skupiny (pravděpodobně z důvodu nedostatku znalostí). Ačkoliv se podařilo některé nižší taxonomické jednotky v rámci rodu bříza přiblížit dnešnímu pojetí taxonomie, sám autor vyjádřil určité pochybnosti či nejasnosti okolo nově zavedeného systému (Skvortsov, 2002).

V průběhu 20. století byly učiněny další pokusy o zpřesnění taxonomického systému bříz (např. Winkler, 1904; Pawlowska, 1983), nicméně významnou změnu přineslo až zavedení molekulárních metod do taxonomie, zejména studie de Jonga (de Jong, 1993 in Schenk et al., 2008), ve které je navrženo dělení rodu bříza do pěti podrodů, či Schenka et al. (2008), která až na drobné detaily potvrzuje validitu de Jongova rozdělení. Nejnovější taxonomický přehled bříz (Ashburner a McAllister, 2013) dělí rod bříza do 4 podrodů a ty dále do 8 sekcí – detailní informace jsou uvedeny v příslušné kapitole.

Celkový počet druhů, které do rodu bříza patří taktéž není jasně znám a názory různých autorů se v tomto údaji značně liší. Nejčastěji je odhadován celkový počet druhů bříz okolo 30–60 (např. Atkinson, 1992; Furlow, 1990; Grimm a Renner, 2013), ale například tuzemská literatura (Kříž, 2003) uvádí až 120 druhů. Zmíněný nový taxonomický přehled autorů Ashburnera a McAllistera (2013) popisuje celkem 46 druhů a další nižší taxonomické jednotky.

Nejvýznamnějšími důvody vysoké genetické variability bříz je pravděpodobně hybridizace (křížení) a následná introgrese (zpětné křížení s rodičovskými druhy) v minulosti (Furlow, 1990; Atkinson, 1992; Anamthawat-Jónsson a Thórsson, 2003; Thórsson et al., 2007, 2010) a také polyploidizace (Särkilahti a Valanne, 1990). Vysoká míra introgrese, respektive podíl sdílených znaků v genotypu mezi odlišnými druhy bříz je popisován zejména ze severských zemí (Johnsson, 1945; Elkington, 1968;

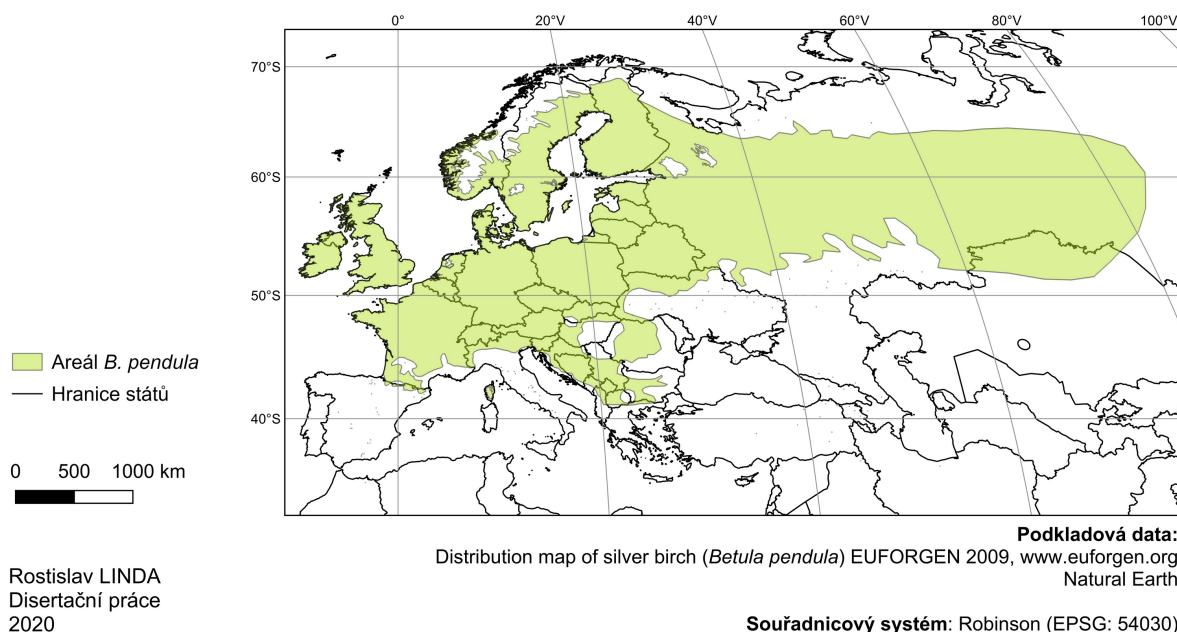
Anamthawat-Jónsson a Thórsson, 2003; Palmé et al., 2004), nicméně lze usuzovat, že k podobnému genovému toku mezi druhy dochází i na území ČR. Polyploidie (přítomnost více než dvou sad chromozomů v buňkách jedince) (Mable, 2003) hraje důležitou roli ve fylogenezi rostlinných druhů; odhadem u 70 % druhů krytosemenných rostlin lze najít polyploidní předky v evolučním vývoji (Masterson, 1994). V případě vývoje nových druhů pomocí polyploidizace tyto nové polyploidní druhy často obsazují jiná stanoviště než jejich diploidní předci (Brochmann et al., 2004), nicméně jednoznačně zvýšená ekologická tolerance vůči abiotickým podmínkám nebyla prokázána (Te Beest et al., 2012).

Základní chromozomové číslo bříz je $x = 14$ (Kříž, 2003). Mimo diploidních jedinců ($2n = 28$) tvoří břízy i triploidy ($2n = 42$) (Anamthawat-Jónsson a Thórsson, 2003), tetraploidy ($2n = 56$), pentaploidy ($2n = 70$), hexaploidy ($2n = 84$) (Järvinen et al., 2004) i jedince s větší velikostí genomu (McAllister a Ashburner, 2007). V České republice se s výjimkou vzácně se vyskytujících triploidních jedinců přirozeně vyskytují pouze diploidní a tetraploidní taxony (Kříž, 2003), kteří navíc s výjimkou *B. nana* patří dle dělení Ashburera a McAllistera (2013) do jednoho podrodu a jedné sekce.

Nejasné taxonomické zařazení některých taxonů rodu bříza je problémem i mezi domácími druhy bříz. Pravděpodobně nejvíce kontroverzním taxonem je tetraploidní bříza karpatská (*B. carpatica*), která byla donedávna českou odbornou veřejností i tuzemskou odbornou literaturou často označována za druh (Kříž, 2003; Buriánek et al., 2014), nicméně aktuální klíč ke Květeně ČR (Vašut, 2019) i zahraniční literatura uvádí břízu karpatskou jako poddruh břízy pýřité (Wielgolaski, 2001; Ashburner a McAllister, 2013), či je uvažována jako nižší taxonomická jednotka (Tuley, 1973; Grissino-Mayer, 1993). Neujasněnou taxonomickou pozici mají i některé diploidní druhy bříz, například bříza ojcovská (Jentys-Szaferowa et al., 1974; Pawłowska, 2014), bříza tmavá (Franiel, 2009) či bříza nízká (Schenk et al., 2008).

1.1 Rozšíření, ekologie a využití bříz

Břízy jsou rodem jednodomých stromů či keřů, jehož zástupci se vyskytují po celé severní polokouli mimo tropické a subtropické pásmo (rozšíření břízy bělokoré *B. pendula*, našeho nejběžnějšího druhu v rámci Evropy viz Obr. 1). Charakteristickým znakem bříz je zpravidla bílá až žlutavě zbarvená či šedavá borka, pouze v některých případech (na Evropském kontinentu však jen málo známých) hnědá až tmavá. Plodem je jednosemenná křídlatá nažka. Opylování i disperze semen probíhá pomocí větru (břízy jsou tedy anemogamní a anemochorní). Břízy se vyznačují každoročně vysokým počtem semen (Kříž, 2003; Ashburner a McAllister, 2013), Martiník (2012) udává až 13 milionů semen ročně z dospělého jedince při průměrné klíčivosti cca 35 %.



Obr. 1: Evropský areál našeho nejběžnějšího druhu – břízy bělokoré (*Betula pendula*)

Ačkoliv lze břízy většinou nalézt na chudých, písčitých půdách či na antropogenně ovlivněných stanovištích, existují i druhy vyskytující se na podmáčených půdách či rašelinistích (např. bříza pýřitá). Severní hranice výskytu bříz se nachází na hranici lesa s tundrou (či na horní hranici lesa v případě vysokých nadmořských výšek) (Wielgolaski, 2001; Ashburner a McAllister, 2013).

Ashburner a McAllister (2013) dělí břízy do 3 základních kategorií: s bílou borkou, tmavou borkou a na břízy keříkovitého vzrůstu. Tato práce se téměř výlučně zabývá středoevropskými druhy bříz, které patří mezi druhy s bílou borkou. Tyto „bělokoré“

druhy bříz jsou zpravidla středě vysoké, rychle rostoucí stromy s vysokými nároky na světlo, avšak velmi nenáročné na živiny – ochotně rostou na antropogenních či jinak disturbovaných půdách. Břízy jsou také často prvními kolonizátory porostních mezer a světlin (Ashburner a McAllister, 2013).

Břízy jsou také díky své charakteristicky zabarvené borce a variabilitě forem oblíbené v zahradnictví a krajinném plánování. Po staletí byly břízy součástí léčitelství, folklóru i mytologie, březové dřevo bylo využíváno pro stavbu obydlí, ale například i lodí. V Rusku je bříza národním stromem (Ashburner a McAllister, 2013). Specifickým příkladem níže postavených taxonů s hospodářským významem je tzv. „karelská“ (nazývaná také „finská“) bříza, která je pro svou kresbu velmi ceněna a je využívána na výrobu dýh, ale i masivního nábytku (Reisner a Zeidler, 2010). Pro svou velmi nízkou odolnost vůči hmyzům a houbovým škůdcům a také pro svůj růstový charakter vyžití neupraveného březového dřeva jako stavebního materiálu nepřichází v úvahu, přesto má v dřevozpracujícím průmyslu své využití, a to zejména na výrobu překližek a dýh – výrobky z břízy se například proslavila švédská firma IKEA.

1.2 Popis domácích taxonů rodu bříza (*Betula* L.)

Na území České republiky se dle tuzemské odborné literatury (Kříž, 2003) vyskytuje celkem 8 původních taxonů rodu bříza:¹.

- Bříza bělokorá (bradavičnatá)^L – *Betula pendula* ROTH ($2n = 28$)
- Bříza pýřitá^L – *Betula pubescens* EHRH. ($2n = 56, 58$)
- Bříza karpatská^{L,*} – *Betula carpatica* W. et K. ($2n = 56$, vzácně 57, 58)
- Bříza skalní^{*} – *Betula patraea* sensu SÝKORA ($2n = 56$)
- Bříza trpasličí – *Betula nana* L. ($2n = 28$)
- Bříza ojcovská^{*} – *Betula ×oycoviensis* BESSER ($2n = 28$)
- Bříza nízká^V – *Betula humilis* SCHRANK ($2n = 28$)
- Bříza tmavá^{*} – *Betula obscura* KOTULA ex FIEK ($2n = 28$)

¹L – druh s lesnickým využitím, V – dle nové tuzemské literatury vyhynulá na území ČR (Vašut, 2019), * – druh s nejasným taxonomickým zařazením

Taxonomické zařazení zmíněných taxonů je převzato z publikace Hejného a Slavíka (2003) a v nejnovější odborné literatuře (Vašut, 2019) se zařazení některých taxonů liší. Více informací je uvedeno v kapitole Diskuse.

V lesnictví je využívána bříza bělokorá a bříza pýřitá (či karpatská, viz dále) jako meliorační a zpevňující dřevina (MZD) (vyhláška 298/2018 Sb.). V parcích či zahradách lze nalézt břízu papírovitou či břízu tuhou, které k nám byly dovezeny ze Severní Ameriky v 19. století. Bříza trpasličí je naším jediným zákonem chráněným druhem břízy (příloha II. zákona 114/1992 Sb.).

Kříž (2003) dále popisuje dva křížence, a to *B. pendula* × *B. pubescens* = *B. × aurata* BORKH. a *B. carpatica* × *B. nana* = *B. × seideliana* MISSBACH. Vzhledem k praktické nerozlišitelnosti břízy pýřité od břízy karpatské (viz např. Vašut, 2019 a dále v textu) lze jmenovat ještě křížence *B. pubescens* × *B. nana* = *B. intermedia* THOMAS ex GAUDIN (Stace, 1991).

Oba kříženci se uvádějí pouze vzácně, *B. aurata* byla v minulosti nalezena v Moravských Karpatech, pravděpodobně však tyto kříženci vznikají i jinde, což potvrzují data prezentovaná v této práci. *B. × seideliana* (resp. *B. × intermedia*) je popisována z Božidarského rašeliniště a také ze dvou lokalit na Šumavě (v okolí Borové Lady a Horské Kvildy) (Kříž, 2003).

1.2.1 Bříza bělokorá (*B. pendula* ROTH)

Syn.: *B. alba* L.; *B. verrucosa* EHRH.; *B. alba* L. subsp. *verrucosa* (EHRH.) ČELAK.; *B. microlepis* VASSILCZENKO

Strom vysoký až 30 m s nepravidelnou, vejčitou korunou, v raném věku žlutavě až načervenalé hnědou borkou, později šedavou až bílou, ve stáří značně rozpukanou v dolní části kmene (Stace, 1991; Kříž, 2003). Výjimečně lze nalézt jedince s více kmeny a jsou známy i keřové formy (Benčať et al., 2006 in Kula, 2011). Větve nižších řádů jsou načervenalé, ve stáří převislé, letorosty jsou lysé (Kříž, 2003). Listy dlouhé 3–6(7) cm, 2,5–5 cm široké se 6–8 páry postranních žilek (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003; Poland a Clement, 2009; Rutkowski, 2018). Pupeny jsou zašpičatělé, vejcovitého tvaru. Nažky jsou cca 2 mm dlouhé s lemem minimálně 2× širším než semenné pouzdro, nahoře přesahující vrchol blizen. Bříza bělokorá je diploidní, $2n = 28$ (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003; Poland a Clement, 2009; Jäger, 2017) Vyskytuje se běžně od planárního do montánního stupně mimo živné půdy (vápence) a lužní lesy, horní hranice výskytu je v našich podmínkách okolo cca 1 000 m n. m.

Světломilná, pionýrská dřevina, v zástinu rychle odumírá. Dožívá cca 150 let. (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

V roce 1927 byl českým botanikem K. Dominem (Domin, 1927) popsán nový druh z Českomoravské vrchoviny *B. atrata* DOMIN. Tento druh byl původně zařazován do skupiny břízy pýřité, nicméně její zařazení bylo později revidováno Hejtmánkem (1956), který ji zařadil jako formu břízy bělokoré (*B. pendula* forma *atrata*).

1.2.2 Bříza pýřitá (*B. pubescens* EHRH.)

Syn.: *B. alba* L. subsp. *pubescens* (EHRH.) ČELAK.

Strom vysoký až 24 m s matně bílou až šedavou, zpravidla hladkou borkou bez zřetelného zbrzdění ve spodní části kmene jako např. u *B. pendula*. Větve nižších řádů nepřevyšují (Stace, 1991; Kříž, 2003). Letorosty jsou nejčastěji červenavě hnědé až do černa, pýřité, bez pryskyřičných bradavek (lenticel). Listy eliptické až vejčité, dlouhé 4–6(7) cm, široké 2,5–5 cm s cca 6 až 7 páry postranních žilek. Okraj listů je zpravidla jednoduše pilovitý (Úradníček et al., 2001; Poland a Clement, 2009; Rutkowski, 2018; Jäger, 2017). Nažky lemované, lem je 1–1,5× širší než semeno. Plodí cca od 10 let, dožívá okolo 100 let (Stace, 1991; Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

Bříza pýřitá je velmi proměnlivým druhem, což je nejčastěji vysvětlováno křížením mezi oddělenými populacemi (Kříž, 2003). Vyskytuje se ostrůvkovitě po celém území ČR od nižších poloh po horské oblasti na vlhkých až rašelinných stanovištích. Světломilná, pionýrská dřevina, globální areál se víceméně shoduje s areálem *B. pendula* avšak v porovnání s *B. pendula* snáší vysokou hladinu podzemní vody (Stace, 1991; Úradníček et al., 2001).

1.2.3 Bříza karpatská (*B. carpatica* W. et K.)

Syn.: *B. pubescens* EHRH. var. *carpatica* W. et K.; *B. rhombifolia* TAUSCH; *B. alba* L. subsp. *pubescens* EHRH. var. *carpatica* W. et K.; *B. pubescens* subsp. *carpatica* W. et K.; *B. pubescens* subsp. *tortuosa* (LEDEB.) NYMAN; *B. pubescens* subsp. *odorata* sensu E. WARB.

Bříza karpatská je strom či keř dorůstající max. 15(20) m. Kmen je velmi ohebný, s borkou různé barvy, od bílé přes žlutavou až po tmavě hnědou (Úradníček et al., 2001; Rutkowski, 2018). Koruna je zpravidla nepravidelná, letorosty jsou pýřité jen

zpočátku, rychle olysávají. Semena mají lem široký stejně jako semeno či užší (Kříž, 2003). Čepel listu nejčastěji vejčitá s délkou (2)2,5–6 cm a šířkou 2–4 cm, velmi často nepravidelně dvojitě pilovitá s 5–8 páry postranních žilek (Stace, 1991; Kříž, 2003; Jäger, 2017).

Bříza karpatská je silně světlomilný, pionýrský druh, vyžadující dostatek půdní vláhy. Snáší krátkou vegetační dobu a odolává pohybujícímu se sněhu (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

Tento taxon tvoří izolované populace s velkou proměnlivostí znaků; zejména ve vyšších polohách pravděpodobně docházelo k intenzivní hybridizaci s jinými taxony. Vyskytuje se zejména na rašelinných stanovištích vyšších poloh, vzácněji na okrajích vlhčích lesů. V ČR se vyskytuje pouze pomístně ve vyšších a horských polohách (cca až do 1350 m n. m.) (Kříž, 2003).

Taxonomická pozice břízy karpatské je dosud neujasněná a je také předmětem řešení této disertační práce. V této kapitole je bříza karpatská uvedena jako samostatný druh, tak, jak ji uváděla tuzemská literatura (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003). Nové poznatky však uvádí břízu karpatskou na nižší taxonomické úrovni, viz dále tato práce nebo např. Rutkowski (2018), Vašut (2019) či Jäger (2017).

V minulosti byl z oblasti Krušných hor popsán výskyt břízy svalcové (*B. tortuosa* LEDEBOUR) (Heynert, 1962; Sýkora, 1983), pozdější revize však tuto informaci vyvrátila se závěrem, že se jednalo o křížence břízy karpatské (Kříž, 2003). Zde je nutné podotknout, že taxonomické zařazení *B. tortuosa* je taktéž neujasněné (Gardiner, 1972) a *B. tortuosa* je jinými autory zařazována jako poddruh břízy pýřité (Gardiner, 1972; Karlsson a Weih, 1996), či uváděna jako identická s břízou karpatskou (také viz synonyma výše) (Gardiner, 1984).

Sýkora (1983) taktéž uvádí nález druhu *B. odorata* BECHSTEIN, později však bylo prokázáno, že odlišování *B. odorata* jako druhu či poddruhu (*B. pubescens* ssp. *odorata*) nemá taxonomický význam a lze jej také sloučit pod břízu karpatskou (Gardiner, 1984).

1.2.4 Bříza skalní (*B. petraea* SÝKORA ined.)

Bříza skalní je provizorně popsán taxon botanikem Tomášem Sýkorou (1983). Výskyt byl lokalizován například do skalních měst severočeské křídové tabule, kde je tento taxon charakteristický pro tzv. reliktní bory a výskyt byl popsán také na raše-

liništích (např. rašelinné pánve Českomoravské vysočiny nebo jižních Čech). Listy břízy skalní měly být nejširší ve střední části listu (podobně jako u břízy pýřité), avšak zelené na obou stranách, dvojité pilovité a na spodní straně téměř či úplně lysé. Taxonomicky je autorem uvedena jako ekvivalent *B. celtiberica* (Sýkora, 1983). Vzhledem k provizornímu popisu není zmíněný taxon ustálen a určení jeho taxonomického postavení je taktéž předmětem této práce.

1.2.5 Bříza trpasličí (*B. nana* W. et K.)

Syn.: *Chamaebetula nana* (L.) OPIZ, Bříza zakrslá (*B. nana* L.)

Keř vysoký do cca (0,8)1 m, větve často poléhavé či vzhřímené, „metlovité“, v mládí hustě pýřité, později olysávající (Stace, 1991; Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003; Jäger, 2017). Borka hnědá až našedlá, neloupavá. Čepel listů okrouhlá, 0,4–1,4 cm dlouhá a 0,5–1,5 cm široká, nejčastěji s 2–4 páry postranních žilek, na okraji tupě vroubkované. Řapík velmi krátký max. cca 3 mm. Nažky s úzkým, často nezřetelným lemem (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003; Poland a Clement, 2009; Jäger, 2017).

Bříza trpasličí dožívá až 100 let, snáší silné mrazy, má však velmi slabou toleranci k zastínění. Druh se často vegetativně šíří do okolí poléhavými větévkami, které snadno koření. Snáší velmi krátkou vegetační dobu a velmi drsné klimatické podmínky (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

Tento druh se vyskytuje nejčastěji na vrchovištích či rašelinných loukách s velmi kyselým podložím. V ČR se vyskytuje zejména na rašeliništích vyšších poloh na Šumavě, v Krušných a Jizerských horách a je glaciálním reliktem (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003). Bříza trpasličí je chráněna zákonem a patří v České Republice mezi silně ohrožené druhy dle zákona č. 114/1992 Sb.

1.2.6 Bříza ojcovská (*B. × oycoviensis* BESSER)

Syn.: *B. alba* (L.) var. *microphylla* WIMMER

Nízké stromy či keře s výškou 3–5 m, borka bílá až šedavá, na mladé letorosty červenavě hnědé, lysé. Větve s nápadně dlouhými brachyblasty se 4–6 listy. Čepel listu kosníková, cca 1,5–3(4) cm dlouhá a 1–2 cm široká, na bázi sbíhavá. Řapík je nápadně červenavý (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003; Rutkowski, 2018; Vašut, 2019). Podobná rodičovskému druhu *B. pendula* (Staszkievicz, 1986).

V ČR je tento druh znám pouze z lokalit na Kadaňsku a v Krušných horách (poblíž obce Volyně u Výsluní), nejčastěji roste společně s *B. pendula* v nadmořské výšce okolo 600 m n. m. V rámci Evropy je znám výskyt v Polsku, Rumunsku, Dánsku, Švédsku a na Ukrajině (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

Taxonomické zařazení břízy ojcovské není v současné době uspokojivě vysvětleno a jeho zjištění je taktéž součástí této práce. Bříza ojcovská je považována za křížence *B. szaferi* JENT.-SZAFF. ex STASZ. a břízy bělokoré (*B. pendula* ROTH) (Staszkiwicz, 1986; Staszkiwicz a Wójcicki, 1992). Bříza ojcovská byla poprvé popsána v roce 1805 (Besser, 1809), jako zvláštní druh byla zařazena v roce 1928 (Jentys-Szaferowa, 1928). Historii taxonomického zařazení břízy ojcovské se blíže věnuje zvláštní kapitola této práce.

1.2.7 Bříza nízká (*B. humilis* SCHRANK)

Syn.: *B. myrsinoides* (TAUSCH); *Chamaebetula humilis* (SCHRANK) OPIZ

Keř vysoký 0,5–2(3) m. Letorosty načervenalé, krátce chlupaté, pupeny malé, vejčité s výrazně obrvenými šupinami. Čepel listu vejčitá, často nesouměrná, 1–3,5 cm dlouhá a okolo 2–5 mm široká s pilovitým okrajem a 5–6 páry postranních žilek. Nažky mají úzký lem, široký cca 1/2 šířky semenného pouzdra (Kříž, 2003; Rutkowski, 2018; Jäger, 2017; Vašut, 2019).

V ČR vyskytovala jako glaciální relikv na Olomoucku, nyní je však uváděna jako vyhynulá (Úradníček et al., 2001; Vašut, 2019). Těžiště výskytu tohoto druhu je střední a zejména východní Evropa, evropská část Ruska a část Mongolska (Kříž, 2003; Jadwiszczak et al., 2011).

1.2.8 Bříza tmavá (*B. obscura* KOTULA ex FIEK)

Syn.: *B. verrucosa* var. *obscura* (A. KOTULA) GÜRKE

Až 25 m vysoký strom s tmavou borkou, v dolní části kmene se často tvoří tmavá kostičkovitá borka (někdy připomínající borku třešně ptačí). Větve nižších řádů jemné, často převislé, tmavé. Pupy vejcovité, špičaté s na okraji brvitými šupinami. Čepel listu vejčitá až okrouhlá, 3–7 cm dlouhá a 3–6 cm široká se 7–8 páry postranních žilek. Okraj listu je dvojité pilovitý. Nažky cca 2 mm dlouhé, s lemem širokým 1,5–2× délky semena. Morfologicky velmi podobná *B. pendula* (Úradníček et al., 2001; Vašut, 2019).

Pomístně se vyskytuje společně s *B. pendula*, snáší však větší zamokření, naopak je náročnější na světlo, proto ji lze nalézt nejčastěji v okrajových částech porostů (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

V ČR byla bříza tmavá uváděna pouze na severovýchodu Moravy, detailní průzkum této oblasti (Bajer a Vašut, 2010) potvrdil výskyt na několika lokalitách v oblasti Moravskoslezských Beskyd a Hostýnsko-Vsetínské pahorkatiny, nejčastěji v nadmořských výškách okolo 500 m n. m. V rámci Evropy je nejvíce výskytů zaznamenáno na území Polska, dále na Slovensku a Ukrajině. Uváděno je i několik lokalit na Skandinávském poloostrově, chybí však detailnější popis (Úradníček et al., 2001; Kříž, 2003).

Taxonomické zařazení břízy tmavé není dosud zcela ujasněno; dle nejnovější tuzemské odborné publikace (Vašut, 2019) je bříza tmavá zařazena jako varieta břízy bělokoré (*B. pendula* var. *obscura*). Okrajově se zařazením břízy tmavé zabývá i tato disertační práce.

1.3 Taxonomické dělení rodu bříza

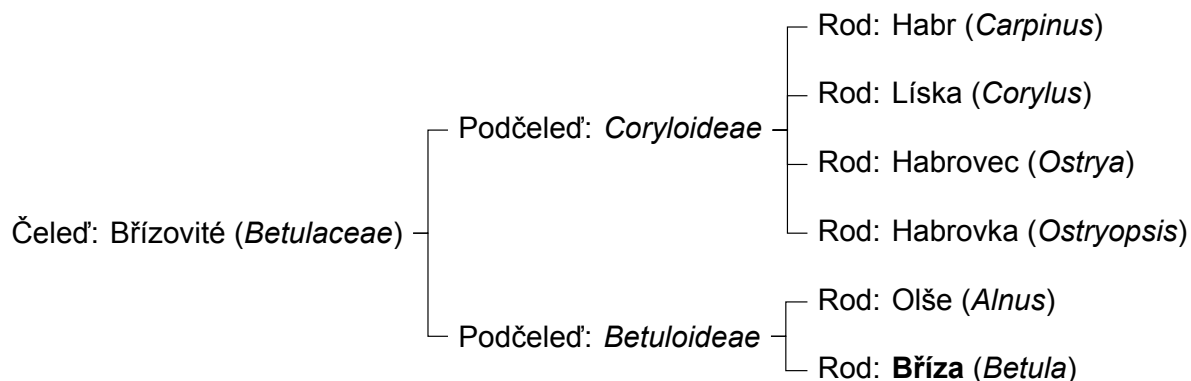
Rod bříza (*Betula* L.) patří do řádu bukotvarých (*Fagales*), čeledi břízovitých (*Betulaceae*) (Lambert et al., 2013), viz Obr. 2.



Obr. 2: Zařazení rodu bříza (*Betula*) do systému vyšších taxonomických jednotek (Kříž, 2003; Grimm a Renner, 2013).

Blízce příbuzné rodu bříza jsou rody olše (*Alnus*), která s rodem bříza sdílí podčeleď *Betuloideae*, dále habr (*Carpinus*), líska (*Corylus*), habrovec (*Ostrya*) a habrovka (*Ostryopsis*), které patří do sesterské podčeledi *Coryloideae* (Chen a Zhang, 1991; Chen

et al., 1999; Järvinen et al., 2004). Zařazení rodu bříza do nejbližší příbuzných taxonomických skupin viz Obr. 3.



Obr. 3: Zařazení rodu bříza (*Betula*) do systému nižších taxonomických jednotek (Chen a Zhang, 1991; Chen et al., 1999).

Jak již bylo uvedeno dříve, taxonomická situace v rámci rodu bříza je značně neujasněná a názory různých autorů na tuto problematiku se značně liší (Järvinen et al., 2004; Ashburner a McAllister, 2013).

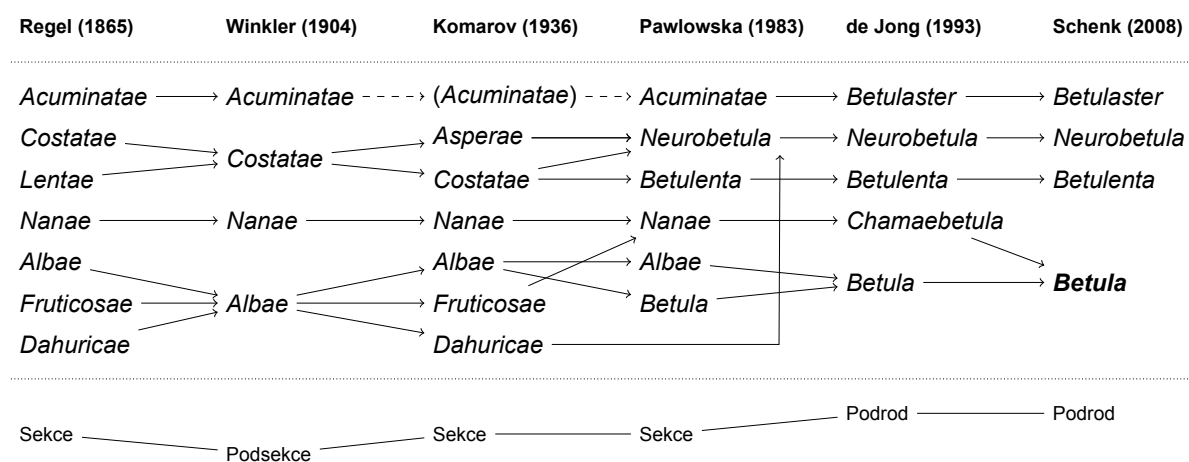
Dle prvního uceleného taxonomického přehledu rodu bříza (Regel, 1865) se rod bříza dělil na 2 podrody (*Betulaster* a *Eubetula*) a ty dále na 7 sekcí (Podrod *Betulaster* obsahoval pouze sekci *Acuminatae*, podrod *Eubetula* obsahoval sekce *Costatae*, *Lentae*, *Nanae*, *Albae*, *Fruticosae*, *Dahuricae*). Toto rozdělení s drobnými úpravami platilo až do 90. let 20. století, přestože byly v průběhu let učiněny další pokusy o úpravu taxonomického dělení rodu bříza (např. Winkler, 1904; Komarov, 1936; Natho, 1976; Pawlowska, 1983 a další). Winkler (1904) toto rozdělení zjednodušil sloučením sekcí *Fruticosae* a *Dahuricae* pod sekci *Albae* a také sekce *Lentae* se sekcí *Costatae*, navíc posunul úroveň sekcí na podsekce (Schenk et al., 2008). Komarov (1936) znovu uvádí zmíněné skupiny na úrovni sekcí a opět uvádí sekce *Fruticosae*, *Dahuricae* a *Albae* odděleně. Uvádí taktéž sekci *Asperae*, do které zařazuje jeden druh původně zařazený Regelem do sekce *Costatae*.

Větší změny v taxonomickém dělení rodu bříza přinesly až studie sekundárních metabolitů (zejména flavonoidů) a také molekulární metody. První výzkum flavonoidů v listech bříz byl proveden v roce 1954 (Hänsel a Hörhammer, 1954 in Pawlowska, 1983), nicméně zásadní změnu přinesly studie Natha (1976), ve které autor navrhuje odlišné dělení od dosud navrhovaného systému, a to do více podrodů, konkrétně pěti (*Betulaster*, *Betulenta*, *Betula*, *Neurobetula* a *Chamaebetula*), které dále rozlišuje do nižších taxonomických skupin a Pawlowské (1983), která na základě analýzy flavonoidů

v listech navrhuje dělení do 5 sekcí (*Acuminatae*, *Betulenta*, *Neurobetula*, *Nanae* a *Albae*), jednotlivé podrody ve své studii však neuvádí.

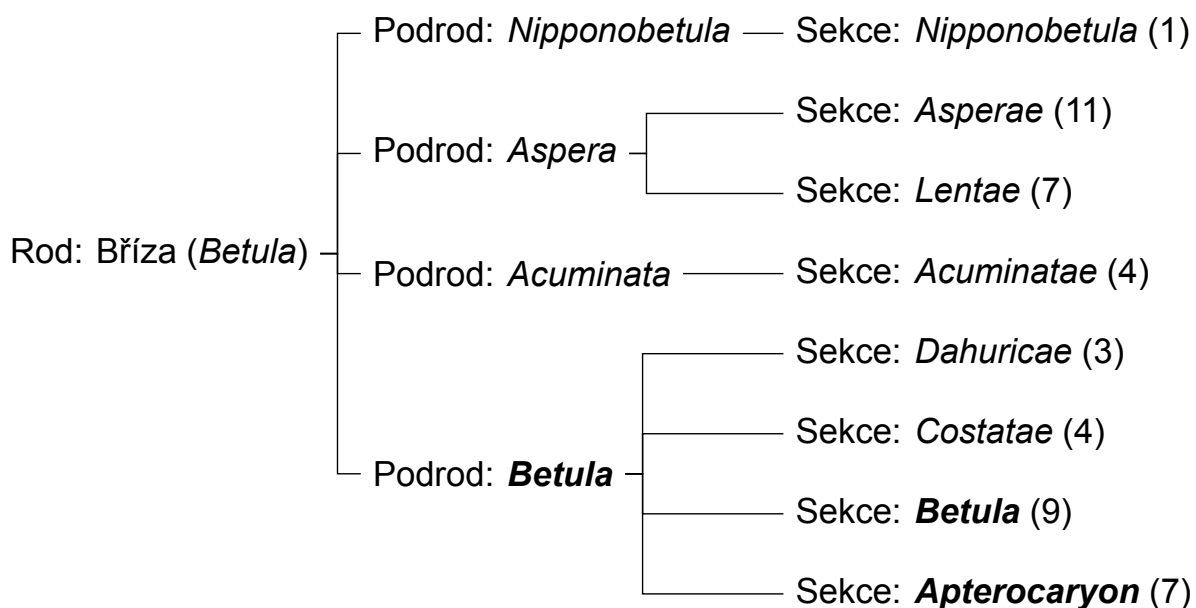
Další studie, zejména studie de Jonga (de Jong, 1993 in Schenk, 2008) opět mění dělení rodu bříza a vrací se k dělení Natha, tj. do 5 podrodů (*Betulaster*, *Neurobetula*, *Betulenta*, *Chamaebetula*, *Betula*). Toto rozdělení je následně potvrzeno studií Keinanena et al. (1999), nicméně autor studie sám uvádí podrod *Chamaebetula* jako polyfyletický a uměle vytvořený.

Podobně jako u mnoha jiných druhů, dalším zásahem do taxonomického systému bříz byla aplikace molekulárních metod. Li et al. (2005) provedl studii příbuznosti 34 druhů rodu bříza, která z velké části souhlasí s dělením de Jonga (de Jong, 1993 in Schenk et al., 2008) a později s dělením Järvinena et al. (2004) či Schenka et al. (2008), který provedl rozsáhlou studii fylogenetických vztahů v rámci rodu bříza zahrnující 99 taxonů (včetně nepopsaných forem a hybridů). Tato práce porovnává zjištěné poznatky s taxonomickými systémy navrženými Winklerem (1904) a de Jongem (de Jong, 1993 in Schenk et al., 2008) a navrhuje sloučení podrodu *Chamaebetula* do podrodu *Betula*. Historie změny v taxonomickém systému rodu bříza jsou naznačeny v diagramu na Obr. 4.



Obr. 4: Historický vývoj taxonomického členění rodu bříza ilustrovaný na 6 studiích v průběhu 20. století. V horní části diagramu jsou popsáni autoři studií, ve spodní části diagramu je uvedena taxonomická úroveň navrženého dělení. Šipky naznačující sloučení či rozdělení taxonomických skupin neznají úplné sloučení či rozdělení skupin, ale pouze hlavní koncept rozdělení, jelikož zároveň docházelo k přesunům některých taxonů do nových či již popsáných skupin. Čárkovaná čára značí absenci dané skupiny v publikaci Komarova (1936) z důvodu výskytu dané skupiny mimo zájmové území studie. Veškeré taxony přirozeně se vyskytující na území ČR spadají do podrodu *Betula* (tučně) dle nejnovějšího dělení Schenka et al. (2008).

Odlišný přístup k dělení rodu bříza představili Skvortsov (2002) a Ashburner a McAllister (2013). Skvortsov na základě svých prací, studií herbářových položek a syntézy výsledků předešlých studií navrhuje dělení do 4 podrodů a ty dále do 8 sekcí, stejně jak navrhli později Ashburner a McAllister (2013). Oproti v minulosti navrženým systémům je tento významně pozměněn, téměř beze změn zůstává podrod *Acuminatae* (dříve také *Betulaster*) a podrod *Betula*, do kterého jsou však přesunuty taxony z jiných taxonomických jednotek. Rozdíly mezi oběma navrženými děleními jsou například ve skupině *Acuminatae*, která je v práci Ashburnera a McAllistera (2013) zařazena na úroveň podrodu, Skvortsov (2002) ji však zařazuje na úroveň sekce pod podrod *Betula*. Dalším rozdílem je zařazení podrodu *Sinobetula*, který uvádí Skvortsov (2002), nicméně Ashburner a McAllister (2013) tento podrod neuvádí a zařazuje jediný příslušný druh (*B. gynoterminalis*) do podrodu *Aspera*, sekce *Asperae*. Taxonomické dělení rodu bříza do nižších taxonomických jednotek viz Obr. 5.



Obr. 5: Dělení rodu bříza (*Betula*) do nejnižších taxonomických jednotek dle Ashburnera a McAllistera (2013). Čísla v závorkách uvádějí počet druhů zařazených do dané sekce. Tučně jsou označeny skupiny, jejichž zástupci se přirozeně vyskytují na území ČR.

Přístupy obou skupin autorů se však ve své argumentaci značně liší. Ashburner a McAllister (2013) uvádí systém, který navrhl Skvortsov (2002) jako nejvhodnější, což popírá například Li et al. (2005) či Järvinen et al. (2004), kteří uvádějí skupiny navržené Skvortsovem (2002) a Ashburnerem a McAllisterem (2013) jako polyfyletické. Sami autoři (Ashburner a McAllister, 2013) však v úvodu své knihy připouštějí, že jejich navržené dělení pravděpodobně nebude klasickými taxonomy uznáváno.

Na území České republiky se dle dělení Ashburnera a McAllistera (2013) přirozeně vyskytují pouze taxony z podrodu *Betula*, sekcí *Betula* a *Apterocaryon* (*B. nana* a *B. humilis*), podle dělení Schenka et al. (2008) patří všechny tyto taxony do podrodu *Betula*.

Z našich domácích druhů jsou taxonomicky ustálené druhy bříza bělokorá (*B. pendula*), bříza pýřitá (*B. pubescens*), bříza trpasličí (*B. nana*) a bříza nízká (*B. humilis*).

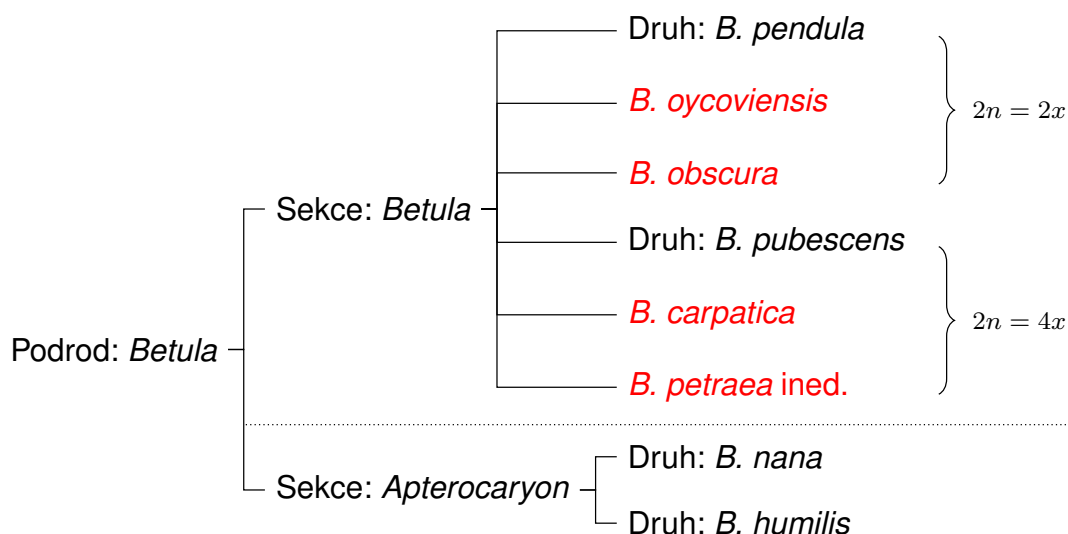
Taxonomické postavení ostatních taxonů je dodnes předmětem diskusí. Pravděpodobně nejvíce diskutovaným sporným taxonem rodu bříza je bříza karpatská (*B. carpatica*), a to díky svému lesnickému potenciálu při zakládání porostů náhradních dřevina na silně disturbovaných horských lokalitách.

1.3.1 Zařazení domácích sporných taxonů rodu bříza

Pravděpodobně nejvíce diskusí o taxonomickém zařazení proběhlo v případě břízy karpatské (*B. carpatica*), která je, jak již bylo zmíněno, různými autory zařazována na různou taxonomickou úroveň (Tuley, 1973; Gardiner, 1981; Kříž, 2003; Buriánek et al., 2014). Dalším neurčitým tetraploidním taxonem je bříza skalní (*B. petraea*), z diploidních taxonů pak bříza ojcovská (*B. ×oycoviensis*) a bříza tmavá (*B. obscura*). Zařazení domácích taxonů rodu bříza s vyznačením sporných taxonů je uvedeno na Obr. 6.

1.3.1.1 Taxonomické zařazení břízy karpatské (*B. carpatica*)

Jak uvádějí Kuneš et al. (2019), zařadit břízu karpatskou jako samostatný druh poprvé pravděpodobně navrhl maďarský botanik Pál Kitaibel (zřejmě ve spolupráci s rakouským objevitelem a přírodovědcem Franzem de Paula Adam Norbert Wenzel Ludwig Valentin von Waldstein). Na začátku 19. století ji takto zavedl do taxonomického systému Carl Ludwig Willdenow a objev připsal výše zmíněným autorům (Willdenow, 1805). V této práci je za vědeckým názvem břízy karpatské uvedena poznámka „*pl. rar. hung.*“, která pravděpodobně slouží jako odkaz na knihu *Descriptiones et icones plantarum rariorum Hungariae* (Waldstein a Kitaibel, 1802, 1805), kde však není bříza karpatská uvedena. Waldstein s Kitaibelem však své záznamy a herbářové položky s Willdenowem přinejmenším konzultovali (Anonymus, 1831; Kirschner et al., 2007).



Obr. 6: Pravděpodobné rozdělení v ČR původních taxonů rodu bříza (*Betula*) dle ploidie (počet sad chromozomů) a do nižších taxonomických jednotek. Základní dělení do sekcí je převzato z publikace Ashburnera a McAllistera (2013). Taxony s neujasněným postavením v taxonomickém systému jsou vyznačeny červeně.

Původní vzorek (holotyp) břízy karpatské je uložen ve Willdenowově herbáři (Botanická zahrada a Botanické muzeum Berlín-Dahlem) (Röpert, 2000+ [průběžně aktualizováno]). Herbářová položka obsahuje poznámku „*Betula carpatica* ... voto quia novam puto in alpibus Carpativis“, viz Příloha 4. Dle místních autorit (Sarah Bollendorf, Paul Hiepko, pers. comm.) je tento vzorek jediným vzorkem břízy karpatské ve Willdenowově sbírce a poznámka na tomto vzorku je psaná Pálem Kitaibelem. Lze se tedy domnívat, že Kitaibel (pravděpodobně dohromady s Waldsteinem) zavedli břízu karpatskou jako zvláštní druh na základě svých nálezů, které předložili Willdenowovi, který ji následně schválil a zařadil do Species Plantarum (Willdenow, 1805).

Po uvedení ve Willdenowově práci byla bříza karpatská obecně chápána a uznávána jako samostatný druh v mnoha následujících odborných publikacích (například Lamarck a Poiret, 1810; Presl a Presl, 1819; Lejeune a Courtois, 1836 nebo Reichenbach a Reichenbach, 1850). Nicméně již v první polovině 19. století se objevily pochybnosti o zavedeném zařazení břízy karpatské, například Wimmer (1839) uvedl břízu karpatskou jako horskou formu břízy pýřité. K podobnému závěru dospěl cca o 50 let později např. Willkomm (1887). Další pochybnosti o taxonomickém zařazení břízy karpatské vyvstaly z práce Morgenthalera (1915), který uvedl, že původní označení *B. carpatica* není opodstatněné a uvedl, že veškeré vzorky z oblasti švýcarských Alp dříve označené jako bříza karpatská jsou ve skutečnosti bříza pýřitá. Stejný zá-

věr vyvodil i v případě původního herbářového vzorku, který ve své práci taktéž analyzoval.

Během 19. století se dále v odborných studiích objevovaly oba názory; někteří autoři podporovali zařazení břízy karpatské jako druhu (Natho, 1959; Szafer et al., 1967), jiní navrhovali zařazení břízy karpatské na nižší taxonomické úrovni, například jako varietu *B. pubescens* subsp. *tortuosa* var. *carpatica* (Pawlowska, 1983), častěji však jako poddruh *B. pubescens* subsp. *carpatica* (Gardiner, 1972; Christensen, 1983; Walters, 1993)

V současné době se autoři botanických klíčů, včetně tuzemského (Vašut, 2019), přiklánějí k zařazení břízy karpatské jako poddruhu *B. pubescens* subsp. *carpatica*, ačkoliv především na našem území byla bříza karpatská donedávna uznávána jako druh (Koblížek, 2002; Kříž, 2003). Jako poddruh klasifikují břízu karpatskou i botanické klíče z okolních zemí (Fischer et al., 2005; Goliašová a Michalková, 2006; Jäger, 2017; Rutkowski, 2018). Velký taxonomický přehled bříz Ashburnera a McAllistera (2013) zařazuje břízu karpatskou pod skupinu taxonů *B. pubescens* var. *pubescens*. Někteří autoři navíc břízu karpatskou vůbec neuvádí (Li et al., 2005; Poland a Clement, 2009; Wang et al., 2016).

1.3.1.2 Taxonomické zařazení břízy skalní (*B. petraea*)

Bříza skalní byla popsána v roce 1983 botanikem Tomášem Sýkorou jako provizorní druh tetraploidní břízy z okruhu břízy pýřité. Tento druh měl sdílet znaky břízy pýřité a břízy bělokoré a jeho výskyt byl lokalizován pouze do pískovcových skal České křídové tabule, kde se měla vyskytovat v porostech společně s borovicí (Sýkora, 1983; Sýkora a Hadač, 1984). Bříza skalní byla od té doby odlišována v tuzemské odborné literatuře jako provizorní druh (Kříž, 2003), v minulosti byla dokonce zřejmě mylně přiřazena k okruhu diploidních bříz (Koblížek, 2002). Aktuální klíč ke květeně ČR uvádí tento taxon pouze okrajově s poznámkou, že pro přesné taxonomické zařazení je potřeba další výzkum. Dílčí zhodnocení genetické variability mezi břízou skalní a ostatními příbuznými taxony je taktéž cílem této práce.

1.3.1.3 Taxonomické zařazení břízy ojcovské (*B. ×oycoviensis*)

Bříza ojcovská je v současném taxonomickém pojetí považována za taxon vzniklý křížením již vyhynulé *B. szaferi* JENT.-SZAF. ex STASZ. a břízy bělokoré (*B. pen-*

dula ROTH) (Staszkievicz, 1986; Staszkievicz a Wójcicki, 1992). Její přesné taxonomické postavení není dodnes zcela objasněno. Bříza ojcovskou poprvé popsal v roce 1805 rakouský botanik Wilibald Suibert Joseph Gottlieb von Besser (Besser, 1809) jako zvláštní druh břízy ze sekce *Albae* (viz výše). Další nálezy břízy ojcovské jsou dokumentovány z 50. let 19. stol. (Berdau), z roku 1866 (P. J. F. Schur) a z roku 1912 (Wójcicki) (Kříž, 1981).

Detailněji byla bříza ojcovská popsána v roce 1921 (Jentys-Szaferowa, 1921) a později zavedena jako druh v roce 1928 na základě popisu vzorků sebraných v oblasti Hamernia v Polsku (Jentys-Szaferowa, 1928). V průběhu druhé poloviny 19. století byla provedena řada výzkumů taxonomického zařazení břízy ojcovské (Jentys-Szaferowa, 1967; Szwabowicz, 1976; Pawłowska, 1980). Na základě výsledků těchto studií byla bříza ojcovská identifikována jako kříženec břízy bělokoré a „*B.nova*“, která byla později označena jako „*B. szaferi* JENTYS-SZAFEROWA ex STASZKIEWICZ“ (Staszkievicz, 1986). Toto označení je víceméně uznáváno dodnes, ačkoliv někteří autoři řadí břízu ojcovskou jako varietu břízy bělokoré *B. pendula* var. *oycoviensis* (Rutkowski, 2018).

1.3.1.4 Taxonomické zařazení břízy tmavé (*B. obscura*)

Bříza tmavá (*B. obscura* KOTULA ex FIEK patří spolu *B. atrata* DOMIN mezi tmavokorné břízy z okruhu břízy bělokoré. Podle Szaferové 1959 byla bříza tmavá byla poprvé zmíněna Andrzejem Kotulou, nicméně její první popis je znám od polského botanika Emila Fieka z roku 1888. Několik studií z první poloviny 20. století potvrzují zařazení břízy tmavé jako druhu (Stecki et al., 1928 in Jentys-Szaferowa, 1959; Wiertelak, 1928 in Jentys-Szaferowa, 1959), a to zejména na základě odlišného (tmavého) zbarvení borky v důsledku nedostatku pigmentu. Ke stejnému výsledku došel Hrynkiewicz-Sudnik et al. (Hrynkiewicz-Sudnik et al., 1962 in Franiel, 2009), a to na základě studia morfologie listů. Odlišnosti ostatních morfologických parametrů (například tvaru pylu) od parametrů měřených na bříze bělokoré však byly v této práci označeny za nevýznamné (Franiel, 2009). Skvortsov (Skvortsov, 1986 in Franiel, 2009) uvádí jako možnou příčinu tmavého zbarvení borky genetickou mutaci břízy bělokoré, kdy se neprojevuje dominantní bílá barva.

V současné době je bříza tmavá považována za poddruh břízy bělokoré (Rutkowski, 2018) či za odlišně barevnou varietu břízy bělokoré (Mirek et al., 2002; Seneta a Dolatowski, 2008), přesné taxonomické zařazení tudíž zůstává nedořešeno.

1.4 Využití bříz v lesnické praxi

Břízy se v našich podmínkách v lesnické praxi využívají zejména jako tzv. meliorační a zpevňující dřeviny (MZD) či přípravné dřeviny (vyhláška 298/2018 Sb.). Meliorační a zpevňující dřeviny plní v lesních porostech především půdoochrannou funkci a přispívají ke stabilitě porostů. Nepřímo tak zachovávají produkční potenciál lesního porostu (Šach, 2005). Porosty přípravných dřevin jsou pak zakládány za účelem přípravy lesního prostředí na lokalitě s následnou přeměnou na stabilní (cílový) lesní porost (Slodičák a Novák, 2008; Kula, 2011).

Břízy jsou pro tyto účely vhodné díky svému pionýrskému charakteru – jedná se o světlomilné dřeviny rostoucí téměř na všech typech půd (včetně antropogenně ovlivněných) s výjimkou periodicky zaplavovaných oblastí. Kromě vysokých nároků na světlo jsou břízy nenáročné na klimatické podmínky a téměř zcela odolávají mrazům (Úradníček et al., 2001; Martiník, 2012).

Pozitivní vliv březových porostů na půdní vlastnosti popisoval koncem 50. let 20. století například Zakopal (1958), který popisuje příznivý vliv bříz na půdu během zalesňování holin na Křivoklátsku způsobených živelnými a hmyzími kalamitami. Tyto kalamity dále následovalo poškození těžkým sněhem mezi léty 1939–1940, což mělo za následek vznik rozsáhlých kalamitních holin. Nově vzniklé holiny byly samozřejmě opětovně zalesňovány, avšak pokusy o zalesnění různými dřevinami (dub, modřín, aj.) nebyly úspěšné, rostly zde pouze náletové břízy. Bříza zde dobře snášela pozdní mrazy a nové sazenice jiných dřevin rostly pouze v podrostu těchto „náhradních“ březových porostů. V létě zde bříza pozitivně působila na porostní mikroklima a to redukcí teplotního rozdílu mezi holinou a březovým porostem (Zakopal, 1958, 1960).

Z dalších pozitivních vlivů březových porostů na půdu lze jmenovat například omezení erozního vlivu srážek, provzdušnění a prohumóznění půdy (a to i velmi zhutnělé) kořenovým systémem bříz, který se dostává do relativně velkých hloubek a příznivý vliv na nadložní humus opadem listů (Zakopal, 1958; Podrázský et al., 2005; Kula, 2011). Pozitivní vliv bříz na půdní vlastnosti dále popisuje např. Brantberg

et al. (2000; 2004), který pozoroval vyšší nasycení sorpčního komplexu bázemi s vyšší dostupností živin v porostech smrku s břízou v porovnání se smrkovou monokulturou. Kromě půdních parametrů byl pozorován pozitivní vliv bříz na obnovu půdní mikroflóry na imisně zatížených lokalitách, což představuje stěžejní prvek při tvorbě humusové vrstvy (Lettl a Hýsek, 1994). V neposlední řadě, porosty pionýrských dřevin vykazují vyšší biodiverzitu v porovnání se monokulturními lesy (např. Zerbe a Meiwes, 2000).

Ve větší míře se břízy jako přípravné dřeviny dále uplatnily například při zakládání přípravných porostů v pohořích severní části České republiky (zejména Krušné hory) po imisní kalamitě z let 1970–1985 (po spuštění elektrárny Pruněřov II) (Ferkl, 2006). Toto poškození porostů bylo následováno mrazovým šokem v roce 1978 a nastalo velkoplošné odlesnění na rozsáhlých plochách (Kula, 2011). Zdroje škodlivých látek byly odsířeny v roce 1990, zakládání náhradních porostů probíhalo cca do roku 1994. Během této kalamity bylo v Krušných horách založeno cca 40 000 ha náhradních březových porostů (Ferkl, 2006).

Založené březové porosty však mezi léty 1995–1997 postihlo rozsáhlé chřadnutí. Tyto chřadnoucí porosty ve stádiu tyčkovin až tyčovin byly nahrazeny porosty jiných dřevin. Břízy se však na disturbované lokality dostávají přirozeně pomocí náletu (sukcese). Na přelomu tisíciletí byl podíl bříz v severovýchodním Krušnohoří cca 16 % (Kula, 2011). Poškození porostů břízy bělokoré ve stejném období bylo pozorováno i na německé straně Krušných hor. Celkem 41 % jedinců břízy bělokoré ve studii Bäuckera a Eisenhauera (2001) vykazovalo poškození kmene (praskliny) a významně nižší foliaci v porovnání s ostatními druhy bříz. Houbové patogeny byly taktéž zjištěny pouze na bříze bělokoré.

Rozdílnosti ve zdravotním stavu různých druhů bříz, lépe řečeno skupin dle ploidie (počtu sad chromozomů v genomu) na těchto disturbovaných lokalitách, byly potvrzeny i na výzkumné ploše Jizerka (VÚLHM, VS Opočno, WGS84: N 50° 49' 50", E 15° 21' 40") v nadmořské výšce cca 960 m n.m. (VÚLHM, 1990). Zde byla testována prosperita různých druhů dřevin v náročných klimatických podmínkách imisně postižené krajiny, mimo jiné i růstový potenciál diploidních (*B. pendula*) a tetraploidních (taxony z okruhu *B. pubescens*) bříz. Výsledky experimentu ukázaly na výrazně vyšší vhodnost tetraploidních bříz pro tvorbu přípravných porostů v těchto podmínkách (Balcar, 2001). Příklad porovnání diploidních a tetraploidních na VP Jizerka viz Obr. 7.



Obr. 7: Porovnání vitality diploidních (vlevo) a tetraploidních (vpravo) jedinců rodu bříza na výzkumné ploše VÚLHM, VS Opočno. Stáří porostu je více jak 20 let. Výrazně rozdílná vitalita porostů ukazují na nutnost pečlivého výběru jedinců pro zakládání porostů náhradních dřevin [Foto: I. Kuneš].

Prosperitu tetraploidních bříz ve zmíněných podmínkách dále potvrzují např. Kuneš et al. (2007), ze zahraničí popisují podobné výsledky například Felton et al. (2016).

Přeměna březových porostů na porosty cílových dřevin je možná po zapojení březového porostu a potlačení buřene či pasečné vegetace, což nastává přibližně po 15. roce od výsadby (Zakopal, 1960; Balcar et al., 2007)

Břízy se díky své nenáročnosti na půdní a klimatické podmínky staly často využívanou dřevinou i pro rekultivace výsypek a dobývacích prostorů či opuštěné zemědělské půdy (Kupka a Dimitrovský, 2011), kde jsou její půdoochranné a rekultivační funkce podobně žádoucí jako v předchozím případě (Uri et al., 2007; Kuznetsova et al., 2010).

Cíle práce

Cílem této práce je zhodnocení morfologické a genetické variability vybraných taxonů rodu bříza (*Betula* L.), konkrétněji:

- I. Zhodnocení možnosti odlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza na základě měření morfologických parametrů na listech jedinců, navržení souhrnné klasifikační funkce pro území ČR a ověření spolehlivosti v minulosti navržených klasifikačních funkcí k tomuto účelu.
- II. Zhodnocení možnosti odlišení vybraných taxonů na základě výše zmíněných morfologických parametrů.
- III. Zjištění odlišností ve velikosti genomu vybraných taxonů rodu bříza.
- IV. Zhodnocení genetické variability mezi vybranými taxony rodu bříza pomocí analýzy mikrosatelitů.
- V. Evaluace taxonomické pozice vybraných taxonomicky „problematických“ taxonů rodu bříza, zejména břízy karpatské (*B. carpatica* W. et K.), břízy ojcovské (*B. oycoviensis* BESSER), břízy skalní (*B. petraea* ined.) a břízy tmavé (*B. obscura* KOTULA ex FIEK)

Metodika

3.1 Taxony zahrnuté do studie

Do studie byly zahrnuty veškeré původní taxony rodu bříza popisované výše včetně některých identifikovaných kříženců. Kvůli specifickému původu břízy ojcovské byla analýza její příbuznosti s mateřským druhem, břízou bělokorou, provedena odděleně. Pro analýzu morfologické a genetické variability rodu bříza na území ČR byly mezi všemi vzorkovanými jedinci rozlišeny následující pracovní skupiny:

1. *B. pendula*, **typická**: typický jedinec vykazující běžné popisované znaky pro *B. pendula*
2. **Atypická** *B. pendula*: diploidní jedinec *B. pendula* vykazující některé znaky netypické pro tento druh
3. *Betula atrata*: diploidní jedinec s tmavou borkou vzorkovaný v oblasti Českomoravské vrchoviny, odkud byla *B. atrata* popsána K. Dominem (Domin, 1927)
4. *B. pendula/B. pubescens*: *B. pendula* (diploidní jedinci) vykazující některé znaky *B. pubescens*
5. *B. pendula/B. carpatica*: *B. pendula* (diploidní jedinci) vykazující některé znaky připisované *B. carpatica* vzorkované na místech, odkud byla *B. carpatica* v minulosti popisována

6. *B. ×ojcoviensis*: diploidní jedinci vzorkovaní v lokalitě PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně. Další jedinci vzorkovaní na této lokalitě byli zahrnuti do oddělené studie taxonomických vztahů břízy ojcovské a břízy bělokoré (viz dále)
7. *B. nana*: typický vzorek druhu
8. *B. pubescens*: typický vzorek vykazující běžné znaky popisované v odborné literatuře
9. **Atypická *B. pubescens***: tetraploidní vzorek (*B. pubescens*) vykazující některé znaky netypické pro tento druh
10. *B. pubescens/B. pendula*: tetraploidní vzorek *B. pubescens* vykazující některé znaky *B. pendula*
11. *B. pubescens/B. carpatica*: tetraploidní vzorek vykazující smíšené znaky *B. pubescens* a *B. carpatica*
12. *B. carpatica*: tetraploidní jedinec vykazující z převažující části znaky *B. carpatica* vzorkovaný v místě dokumentovaného výskytu *B. carpatica*
13. *B. carpatica/B. pendula*: tetraploidní jedinec vykazující znaky *B. carpatica* vzorkovaný v místě popisovaného výskytu tohoto taxonu vykazující některé znaky *B. pendula*
14. **Tetraploid s tmavou borkou**: tetraploidní jedinec z okruhu *B. pubescens* s tmavou borkou
15. *B. petraea*: jedinci vykazující znaky *B. petraea* vzorkované v místech, odkud byl tento taxon popisován (Sýkora, 1983)
16. **Tetraploidní jedinci vykazující znaky *B. nana***: tetraploidní vzorky původně sebrané z důvodu podezření na křížence *B. nana*
17. *B. ×seideliana*: kříženec *B. nana* a *B. carpatica* určený místním botanikem (Alois Pavličko, pers. comm.) na základě původního popisu (Missbach, 1908)
18. **Blíže neurčený triploid**: Triploidní jedinci zjištění z lokalit Paštěcké skály na Šumavě a Červené blato na Třeboňsku

Pro detailní studii vztahů populací břízy ojcovské a břízy bělokoré byly odlišeny následující pracovní skupiny:

1. ***B. ×oycoviensis* (ČR)**: vzorky *B. ×oycoviensis* odebrané na lokalitě PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně
2. ***B. ×oycoviensis* (PL)**: vzorky *B. ×oycoviensis* vzorkované na lokalitách v Polsku, odkud byla v minulosti popisována (Skielek, Dolina Kobylańska)
3. ***B. pendula/B. ×oycoviensis* (ČR)**: jedinci vzorkovaní na PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně vykazující přechodové znaky *B. ×oycoviensis* a *B. pendula*
4. ***B. pendula/B. oycoviensis* (PL)**: jedinci vzorkovaní na lokalitách Skielek a Dolina Kobylańska v Polsku vykazující přechodové vzorky *B. oycoviensis* a *B. pendula*
5. ***B. pendula* (ČR)**: vzorky *B. pendula* z ČR, taktéž použité v předchozí části
6. ***B. pendula* (PL)**: vzorky *B. pendula* z okolí lokalit sběru vzorků *B. ×oycoviensis* v Polsku
7. ***B. atrata***: vzorek jedince s tmavou borkou z lokality Dolina Kobylańska odpovídající popisu *B. atrata* (Domin, 1927)
8. ***B. obscura***: vzorek jedince s tmavou borkou z lokality Dolina Kobylańska odpovídající popisu *B. obscura* (Franiel, 2009).
9. ***B. humilis***: vzorek *B. humilis* z botanické zahrady v Krakově
10. ***B. nana***: vzorek *B. nana* z lokality Božidarské rašeliniště v Krušných horách
11. **vzorky vypěstované z osiva *B. ×oycoviensis* z ČR vykazující znaky *B. szaferi***: vzorky jedinců vypěstovaných z osiva *B. ×oycoviensis* odebraného na PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně
12. **původní vzorek *B. szaferi* z herbáře Botanické zahrady v Krakově**: původní vzorek *B. szaferi* (Staszkiwicz, 1986)

3.2 Výběr vhodných lokalit pro vzorkování

Lokality pro sběr vzorků byly vytipovány tak, aby došlo k co možná největšímu pokrytí lokalit výskytu jednotlivých taxonů. Pro výběr lokalit byly využity v minulosti publikované práce (např. Hejtmánek, 1956; Sýkora, 1983; Sýkora, 1984; Kříž, 2003) a také portál databáze české flóry (www.florabase.cz; www.pladias.org, cit. 31. 8. 2019). Pro analýzu morfologických a genetických odlišností břízy ojcovské byly vybrány popisované lokality výskytu v Polsku (Dolina Kobylańska a Skielek) (Pawłowska, 1980; Staszkievicz a Wójcicki, 1992) a naše jediná lokalita výskytu – Volyně v Krušných horách (Baláš et al., 2016). Podkladem pro výběr vhodných lokalit byla i doporučení místních odborníků (viz kapitola Poděkování).

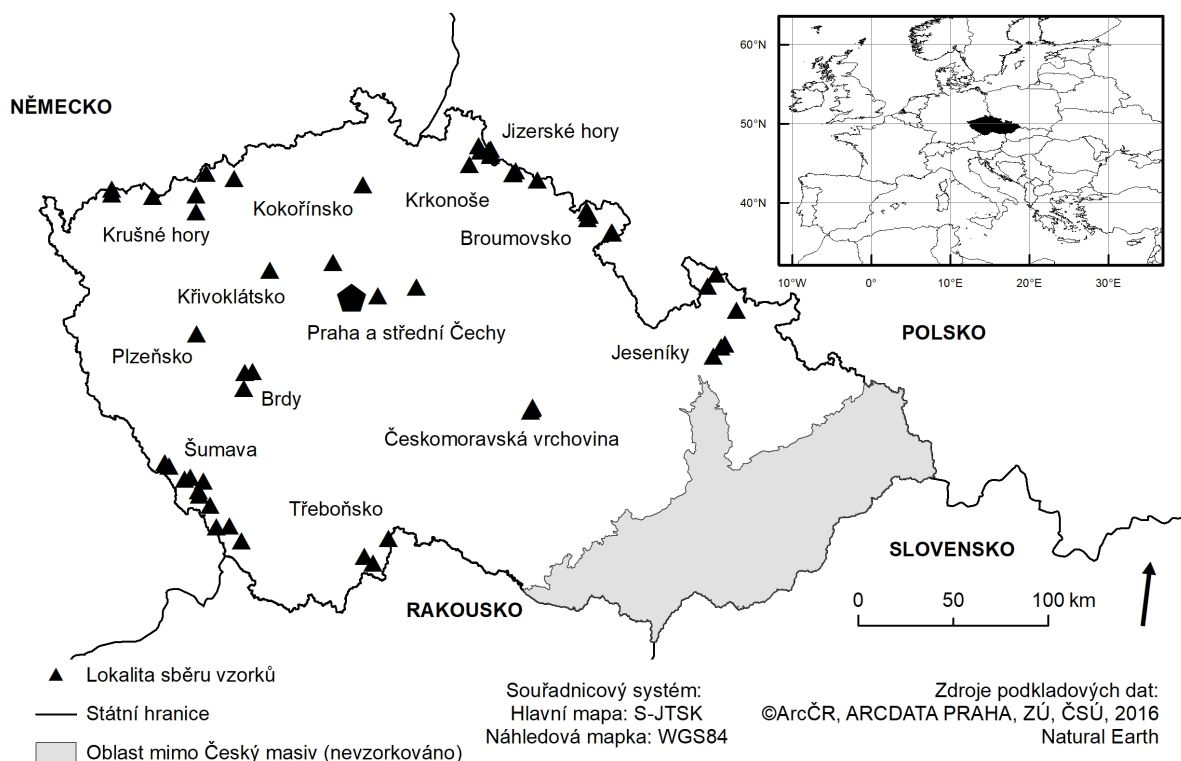
3.3 Sběr vzorků

Pro studium genetické a morfologické variability bříz z okruhu břízy pýřité (zejména břízy karpatské) a jejich porovnání s ostatními původními druhy bříz vyskytujících se na území ČR bylo mezi lety 2010–2018 vzorkováno celkem 432 jedinců z 56 lokalit (13 oblastí) v rámci oblasti Českého masivu (Obr. 8). Tyto oblasti celkem reprezentují 31 typů biotopů (Chytrý et al., 2010). Kompletní seznam lokalit je v Příloze 1 této práce a podobně jako výsledky studie publikován v publikaci Kuneše et al. (2019).

Jednotlivé vzorky byly v rámci lokality vybírány s důrazem na co možná největší pokrytí zájmové lokality. Ke každému jedinci byla zaznamenána GPS pozice a vzorek byl pracovně taxonomicky zařazen (na základě morfologických znaků popisovaných v odborné literatuře, např. Kříž, 2003). U každého jedince byla taktéž zaznamenána výčetní tloušťka a výška stromu a dále byly odebrány 3 letorosty. Tyto vzorky byly uloženy v plastovém sáčku spolu s vatovým váčkem napuštěným vodou a převáženy v chladícím boxu.

Dva z odebraných letorostů byly použity pro měření morfologických parametrů na listech (viz dále) a listový materiál z třetího odebraného letorostu byl použit pro cytometrické analýzy ve specializované laboratoři (Katedra botaniky, PřF UK). Zbýlý materiál byl použit pro molekulární analýzy (taktéž popsáno dále).

V případě vzorkování *B. ×oycoviensis* pro studii její morfologické a genetické variability bylo postupováno stejně jako v předchozím případě, sběr vzorků však proběhl

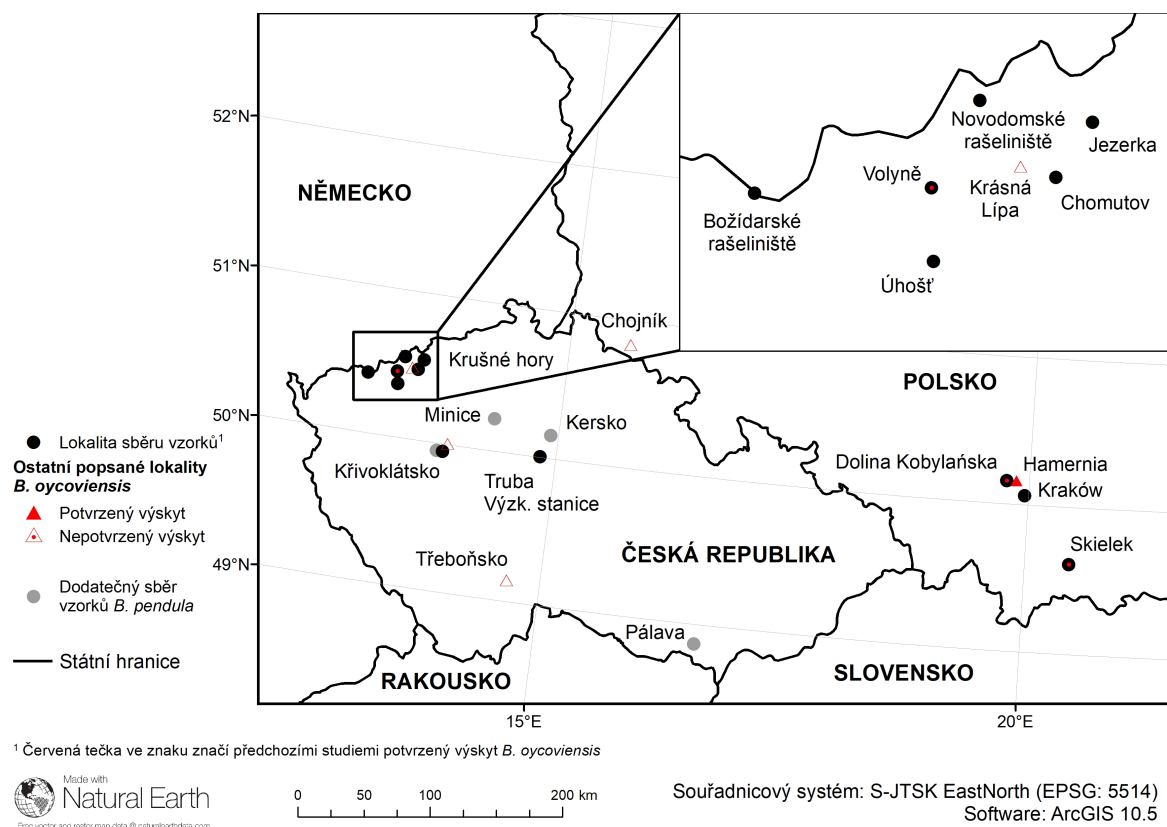


Obr. 8: Lokality sběru vzorků pro studii morfologické a genetické variability bříz na území Českého masivu. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

pouze na jediné potvrzené lokalitě výskytu v České republice (Přírodní památka Lokalita břízy ojcovské u Volyně), na Křivoklátsku (kde byl odebrán jeden vzorek vykazující některé znaky břízy ojcovské) a dále na zvolených lokalitách v Polsku (Dolina Kobylańska a Skielek). V lokalitě Hamernia nebyli během terénní pochůzky nalezeni žádní jedinci vykazující znaky břízy ojcovské, ačkoliv tato lokalita představuje místo původního popisu tohoto druhu (tzv. „*locus classicus*“) (Jentys-Szaferowa, 1928). Někteří autoři však již v minulosti popisovali pokles početnosti břízy ojcovské na lokalitě Hamernia a její pravděpodobné vymizení z lokality koncem 90. let 20. století (Sołtys-Lelek a Barabasz-Krasny, 2009).

Vzorky byly doplněny o určené exempláře z Botanické zahrady v Krakově a jedince vykazující znaky *B. szaferi* vypěstované z osiva břízy ojcovské odebrané na lokalitě PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně („vypěstovaná *B. szaferi*“, viz dále). Původní vzorek (tzv. „holotyp“, číslo KRAM 303846) *B. szaferi* (Staszkiwicz, 1986) byl získán z herbáře Institut Botaniky W. Szafera Polské akademie věd v Krakově. Datová sada byla dále doplněna o vzorky břízy bělokoré z Krušných hor (viz Obr. 9 a Příloha 2). Celkem byly odebrány vzorky 106 jedinců.

Lokality byly vybírány na základě v minulosti publikovaných studií (zejména Jentys-Szaferowa, 1928 a Staszkiwicz, 1986, 2013) a také databáze České flóry PLADIAS (dostupné na <https://pladias.cz/en/>).



Obr. 9: Lokality sběru vzorků pro studii morfológické a genetické variability populací břízy bělokoré a břízy ojcovské v ČR a v Polsku. Červenými plnými trojúhelníky jsou znázorněny lokality s popsáním výskytu břízy ojcovské, kde avšak nebyli nalezeni žádní jedinci, prázdným červeným trojúhelníkem jsou označeny lokality nepotvrzeného výskytu. Šedou značkou jsou označeny lokality dodatečného sběru vzorků břízy bělokoré (viz Diskuse). Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

3.4 Uložení a skladování odebraného materiálu

Každý vzorek byl označen unikátním kódem a dva ze tří odebraných letorostů byly vloženy do filtračního papíru a dále herbářovány pro následná morfometrická měření. Poslední letorost byl během přepravy uložen v chladícím boxu a následně ihned analyzován pomocí metody průtokové cytometrie popřípadě uložen pro pozdější genetické analýzy v mrazícím boxu při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.5 Morfometrická měření

Z každého ze dvou odebraných letorostů pro morfometrické analýzy byly vybrány dva listy (tzn. 4 listy z každého jedince, pokud tak umožňovala velikost vzorku) vhodné pro změření vybraných parametrů. Na každém z vybraných listů byly změřeny a statisticky hodnoceny následující parametry¹:

- délka čepele [mm] (**a**)
- délka řapíku [mm] (**b**)
- šířka čepele (měřeno v nejširším místě listu) [mm] (**c**)
- úhel špičky listu [°] (**d**)
- vzdálenost nejširšího místa čepele od báze čepele [mm] (**g**)
- počet listových žilek [-]
- šířka listové čepele v její horní 1/4 [mm] (**j**)
- vzdálenost 1. zubu čepele od báze čepele [mm] (**l**)
- úhel 1. žilky [°] (**m**)

Měřené parametry byly vybrány na základě publikace Ešnerové et al. (2012) a Lindy et al. (2017) tak, aby bylo možné změřit všechny vybrané parametry na všech vzorcích listů; například dále uvedený parametr „úhel 4. žilky“ není možné změřit u některých vzorků z důvodu absence 4. žilky na jejich listech (např. u břízy trpasličí) nebo je jejich měření na menších listech velmi nepřesné, například dále uvedený parametr „úhel nasazení báze čepele“.

¹písmena v závorkách označují zkratku použitou v nákresu parametrů na Obr. 10

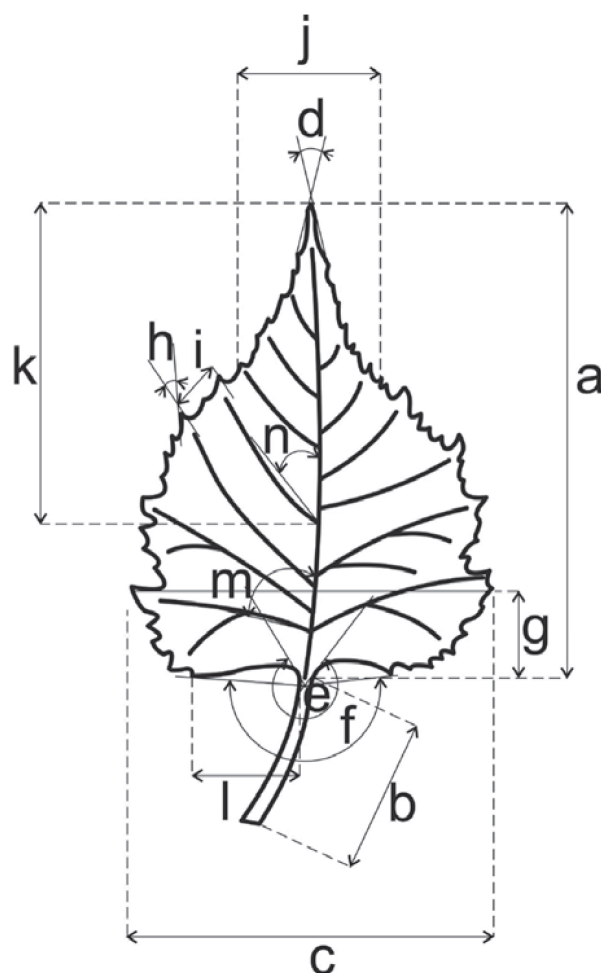
Pro účely zhodnocení morfologických parametrů populací břízy ojcovské byly dále pro zpřesnění analýz přidány následující parametry²:

- úhel nasazení báze čepele [°] (**e**)
- úhel báze čepele [°] (**f**)
- úhel vroubení listu [°] (**h**)
- vzdálenost mezi zuby 3. a 4. žilky [mm] (**i**)
- počet zoubků mezi zuby 3. a 4. žilky [-]
- vzdálenost 4. žilky od špičky listu [mm] (**k**)
- úhel 4. žilky [°] (**n**)

Tyto rozšiřující parametry byly použity pouze pro detailnější zhodnocení morfologické variability mezi českými a polskými populacemi břízy ojcovské (z důvodu jejich měřitelnosti na zájmových jedincích).

Měření byla provedena běžnými pomůckami (kancelářským pravítkem a úhloměrem) pro zachování možnosti snadného a nenákladného opakování měření a možnosti provedení měření i v terénních podmínkách. Nákres měřených parametrů je uveden na Obr. 10.

²písmena v závorkách označují zkratku použitou v nákresu parametrů na Obr. 10



Obr. 10: Nákres měřených listových parametrů. Převzato z práce Ešnerové et al. (2012).

3.6 Cytometrická měření

Odebrané vzorky byly dále analyzovány metodou průtokové cytometrie (jako interkalační činidlo byl použit propidium jodid) (Suda a Pyšek, 2010) za účelem zjištění velikosti genomu vzorku (a zejména počtu sad chromozomů, tedy ploidy). Jako standard byla použita známá velikost genomu sóji (*Glycine max* (L.) MERRIL), $2C = 2,37$ pg (Chung et al., 1998) a lilku (*Solanum pseudocapsicum* L.), $2C = 2,61$ pg. Pro zajištění kompatibility měření byly oba standardy kalibrovány vzájemným měřením. Pro přípravu měřeného vzorku byly použity dva až tři listové stonky (v případě nedostatku materiálu ještě cca $1,5$ cm² listového materiálu) spolu s přibližně stejným množstvím standardu. Vzorky analyzovaného jedince byly spolu se vzorkem standardu nasekány v 0,5 ml pufru Otto I (Otto, 1990). Suspenze byla filtrována přes

nylonové síto o velikosti oka 42 μm a inkubována po dobu asi 20 minut při pokojové teplotě.

Vzorek byl následně obarven roztokem 1 ml Otto II pufru (Otto, 1990), β -merkaptoetanolu (2 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$), propidium jodidu (50 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$) a RNázy IIA (50 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$). Takto připravené vzorky byly analyzovány na cytometru Partec CyFlow (Partec GmbH, Německo) vybaveného laserem Cobolt Samba (Cobolt AB, Švédsko, 532 nm, 100 mW).

Ploidie (počet sad chromozomů) vzorku zjištěný metodou průtokové cytometrie byl použit pro rozdělení vzorků do pracovních skupin (viz dále). Pro statistické analýzy byla dále vypočítána velikost holoploidního genomu (tzv. 1Cx hodnota) (Greilhuber et al., 2005). Cytometrické analýzy byly provedeny v laboratoři PřF UK v Praze. Stejná metoda již byla použita ve studiích Lindy et al. (2017), Kuneše et al. (2019) a Lindy et al (2020).

3.7 Genetické analýzy

Pro analýzu mikrosatelitů byly uskladněné vzorky homogenizovány zmrazením v tekutém dusíku a rozemletím pomocí oscilačního mlýnu Retsch MM400 (Retsch, Düsseldorf, Německo). Následná izolace jaderné DNA byla provedena pomocí kitu QUIAGEN DNEasy Plant Mini Kit (Quiagen, Hilden, Německo) dle přiloženého manuálu. Koncentrace a čistota vyizolované DNA byla kontrolována spektrofotometricky a také na agarózovém gelu (0,7%). Před PCR reakcí byla získaná DNA naředěna na koncentraci 10 ng/ μl a uskladněna při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Pro výběr vhodných mikrosatelitních markerů bylo použito celkem 50 navržených ve studiích Kulju et al. (Kulju et al., 2004) a Tsuda et al. (Tsuda et al., 2009b,a). Z tohoto vzorku bylo celkem vybráno 12 polymorfních markerů (viz Příloha 3).

Přední primery (tzv. „forward primers“) byly označeny fluorescenční sondou (NED, PET, VIC, 6-FAM) pro možnost provedení analýzy v sekvenátoru. Markery byly optimalizovány do dvou multiplexů.

PCR (polymerázová řetězová reakce (angl. *Polymerase chain reaction*) byla v obou případech provedena se vzorkem o objemu 20 μl , který obsahoval 15 ng DNA, sadu primerů (0,25 μM každého primeru), 200 μM dNTP, 2,5 mM MgCl_2 jednoho PCR bufferu „multiplex mix“ s polymerázou (výrobce Life Technologies, později Thermo-Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

PCR program dle Kulju et al. (2004) byl nastaven na následující sekvenci:

1. Denaturace I (5 minut, 90 °C)
2. Dále 30 cyklů:
 - a) Denaturace II (60 s, 95 °C)
 - b) Nasedání primerů (annealing) (75 s, 57 °C)
 - c) Syntéza DNA (150 s, 72 °C)
3. Závěrečný elongační krok (10 minut, 72 °C)

PCR program dle Tsuda et al. (2009b; 2009a) byl nastaven na následující sekvenci:

1. 30 cyklů:
 - a) Denaturace (30 s, 95 °C)
 - b) Nasedání primerů (annealing) (30 s, 55 °C)
 - c) Syntéza DNA (45 s, 72 °C)
2. Závěrečný elongační krok (7 minut, 72 °C)

Do 14 μ l roztoku formamidu a DNA standardu GeneTrace500 (Carolina Biosystems, Praha) připraveného dle manuálu výrobce byl přidán 1 μ l PCR produktu. Roztok byl denurován (5 minut, 95 °C) a následně chlazen pomocí ledu.

Pro stanovení délek (fragmentační analýzu) zvolených repetit (mikrosatelitů) byl použit přístroj Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA). Surová data (ve formátu .fsa) byla zpracována v programu GeneMarker 1.81 (SoftGenetics, State College, Pensylvánie, USA). Každá z délek repetit (alela) byla vyhodnocena individuálně s přihlédnutím k možným nepřesnostem (např. +A alely, či tzv. „stutter bands“, viz např. Ellegren, 2004 nebo Brookes et al., 2012).

3.8 Statistické zpracování dat

3.8.1 Morfometrické analýzy

Vstupem pro morfometrické analýzy byly průměrované hodnoty v rámci jedinců (obvykle ze 4 měřených listů, dva z každého ze dvou odebraných letorostů) pro každý

z parametrů. První provedenou analýzou bylo testování rozdílů mezi vzorkovanými diploidními a tetraploidními jedinci. Dále byla navržena nová souhrnná klasifikační funkce pro odlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza (s výjimkou *B. nana* a příbuzných taxonů) na základě měřených listových parametrů. Následující analýzy se zabývají možnostmi determinace taxonů na základě morfometrických analýz. Bříza ojcovská, respektive odlišnosti její listové morfologie od břízy bělokoré, byla analyzována samostatně.

3.8.1.1 Testování odlišností v jednotlivých parametrech mezi odebranými diploidními a tetraploidními vzorky

Pro každý z měřených parametrů byl dále proveden statistický test pro testování rozdílů mezi diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza. V případě splnění podmínek normality dat byl použit t-test (popřípadě Welchův test v případě neshody rozptylů mezi datovými soubory), v opačném případě byl pro testování použit dvouvýběrový Wilcoxonův test. Vzorky *B. nana*, *B. ×seideliana* a triploidních jedinců nebyly z důvodu jejich výrazně odlišné listové morfologie zahrnuty do analýz. Výpočty byly provedeny v software R (R Core Team, 2020).

3.8.1.2 Navržení klasifikační funkce pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza

Klasifikační funkce navržená v této práci je vytvořena pomocí tzv. „Shrinkage Discriminant Analysis“ metody za použití balíku „sda“ (Zuber a Strimmer, 2009) v software R (R Core Team, 2020). Vhodné parametry pro klasifikaci byly vybrány pomocí t-hodnot opravených o korelaci (z angl. „*Correlation adjusted t-scores*“) (Zuber a Strimmer, 2009; Ahdesmäki a Strimmer, 2010).

3.8.1.3 Ověření spolehlivosti v minulosti navržených klasifikačních funkcí pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza

Pro veškerá naměřená data vyjma dat pro studium listové morfologie břízy ojcovské (viz výše) byla ověřována spolehlivost dalších třech klasifikačních funkcí: (I) dle Atkinsona & Codlinga (1986), (II) dle Ešnerové et al. (2012) a (III) dle Lindy (Linda, 2016).

Klasifikační funkce dle Atkinsona a Codlinga (1986) má tvar

$$D = 12 \times LTF + 2 \times DFT - 2 \times LTW - 23, \quad (3.1)$$

přičemž pokud je výsledek funkce (zde označený D) kladný, daný jedinec je spíše diploidní a naopak. Zkratky v rovnici značí následující:

- LTF – počet zoubků mezi zakončením 3. a 4. žilky
- DFT – vzdálenost 1. zubu čepele od báze čepele [mm]
- LTW – šířka listové čepele v její horní 1/4 [mm].

Tato funkce byla navržena na základě morfometrických měření vzorků z Velké Británie a na původních vzorcích vykazovala úspěšnost 93 %.

Klasifikační funkce dle Ešnerové et al. (2012) má tvar

$$D = (31 \times i) - (10 \times j) + (12 \times l) - 166, \quad (3.2)$$

kde

- i – vzdálenost mezi zuby 3. a 4. žilky [mm]
- j – šířka listové čepele v její horní 1/4 (taktéž LTW v předchozí rovnici) [mm]
- l – vzdálenost 1. zubu čepele od báze čepele (taktéž DFT v předchozí rovnici) [mm].

Klasifikační kritérium je identické jako v prvním případě, a to pokud je výsledek rovnice (rovněž označen D) kladný, jedinec je spíše diploidní a naopak. Tato funkce byla navržena na základě morfometrických měření vzorků z oblasti Krkonoš a vykazovala 100% úspěšnost při testování její spolehlivosti na původních vzorcích.

Autor této práce taktéž navrhl klasifikační funkci, a to na základě morfometrických měření vzorků bříz z oblasti Šumavy (Linda, 2016). Tato funkce má tvar $D = -9,627 - 0,449 \times A + 0,219 \times B + 1,729 \times C$, kde A značí šířku listové čepele v její horní 1/4 (taktéž LTW) [mm], B značí úhel 1. žilky [°] a C počet zubů mezi zuby 3. a 4. listové žilky (identické s LTF). Tato funkce vykazovala spolehlivost 96 % na původních vzorcích.

Zde je nutné upozornit, že veškeré klasifikační funkce uvedené v této kapitole používají parametry vázané na přítomnost 4. listové žilky na listu. Pro konstrukci klasifikační funkce v této práci nebyly tyto parametry využity (z důvodu zahrnutí vzorků, které zpravidla nemají 4 a více listových žilek, např. *B. nana*). Spolehlivost těchto funkcí je tedy ověřena na vzorcích, kde bylo možné použité parametry naměřit.

3.8.1.4 Morfologická variabilita mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza na území ČR

Pro obecný náhled na získaná mnohorozměrná data byla provedena analýza hlavních komponent (angl. *Principal component analysis*, PCA). Pro rozklad byla v procesu výpočtu PCA použita korelační matice. Výsledky této analýzy jsou prezentovány ve formě bodového diagramu (angl. *scatterplotu*). Rozdíly mezi všemi vylišenými taxony či pracovními skupinami byly testovány pomocí mnohorozměrné analýzy variance (angl. *Multivariate analysis of variance*, MANOVA). Jako testovací statistika byla v případě MANOVA použita tzv. Pillai-stopa. Výsledky mnohorozměrné analýzy variance byly dále podrobněji analyzovány pomocí kanonické diskriminační analýzy (angl. *Canonical discriminant analysis*, CDA). Veškeré statistické analýzy jsou provedeny v software R (R Core Team, 2020) za použití balíků „ggplot2“ (Wickham, 2016), „dplyr“ (Wickham et al., 2020), „fdm2id“ (Blansché, 2020) a sady funkcí „MorphoTools“ (Koutecký, 2015). Provedená CDA analýza byla následně aplikována zpětně a bylo tak zjištěno procento úspěšně zařazených jedinců na základě zjištěného algoritmu. Veškeré statistické testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

3.8.1.5 Morfologická variabilita mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré

Analýza rozdílů listové morfologie mezi břízou ojcovskou a břízou bělokorou probíhala pomocí stejného postupu jako v předešlém případě s výjimkou statistického testování rozdílů v jednotlivých parametrech, které bylo provedeno mezi taxony (nikoliv mezi ploidiemi).

3.8.2 Analýzy velikosti genomu (zpracování cytometrických dat)

V případě testování rozdílů mezi taxony z okruhu břízy bělokoré a břízy pýřité (viz pracovní skupiny, kapitola 3.1) i v případě odděleného testování rozdílů mezi

břízou ojcovskou a břízou bělokorou byly pro vyjádření velikosti genomu použity tzv. 1Cx hodnoty (Greilhuber et al., 2005). Rozdíly mezi 1Cx hodnotami vylišených pracovních skupin byly testovány pomocí Kruskal-Wallisova testu s následnými mnohonásobnými porovnáními (z důvodu nesplnění podmínek pro použití analýzy rozptylu). Výsledek je prezentován ve formě boxplotů. Statistické testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$, výpočty byly provedeny pomocí software R (R Core Team, 2020) za použití balíků „pgirmess“ (Giraudoux, 2018) a „ggplot2“ (Wickham, 2016).

3.8.3 Analýzy mikrosatelitů

Mikrosatelitová data byla v případě analýzy příbuzností v rámci okruhu břízy bělokoré a břízy pýřité i v případě analýzy genetické variability mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré analyzována metodou Bayesovského klastrování v software STRUCTURE (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2003, 2007; Hubisz et al., 2009). V prvním případě byla analýza provedena zvlášť pro diploidní a tetraploidní jedince. Pro analýzu bylo použito následující nastavení:

- Počet opakování analýzy (běhů pro každé K): 20
- Počet iterací v každém běhu: 100 000 burn-in, poté dalších 100 000
- Model: směsný (angl. *admixture model*)
- Korelované alelové frekvence (mezi skupinami) (Porrás-Hurtado et al., 2013)
- K (počet teoretických skupin v datasetu): 1–10 pro diploidy, 1–12 pro tetraploidy³

Ostatní parametry byly ponechány ve výchozím nastavení. Nejpravděpodobnější počet geneticky odlišných skupin v datasetu byl odhadnut pomocí metody, kterou představil Evanno et al. (2005) v on-line nástroji STRUCTURE HARVESTER (Earl a VonHoldt, 2012). Přiřazování clusterů a permutace byla provedena v software CLUMPP (Jakobsson a Rosenberg, 2007), klastrovací diagramy byly vytvořeny v software DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

Pro každou ze zvolených pracovních skupin/taxonů byl dále zjištěn počet jedinečných alel. Pro komplexní analýzu genetických vztahů (pro celé datasety) byla

³Maximální počet skupin byl zvolen jako celkový počet pracovních vylišených skupin + 3.

v případě analýzy vztahů bříz okruhu břízy bělokoré a břízy pýřité z důvodu různé ploidie vzorků použita analýza hlavních koordinát (angl. *Principal coordinates analysis*, PCoA). Základem pro tuto analýzu byly genetické vzdálenosti vypočítané dle publikace Bruvo et al. (2004). V případě analýzy příbuznosti břízy ojcovské a břízy bělokoré byla za účelem dalšího (podrobnějšího) náhledu na data použita metoda diskriminační analýzy na základě analýzy hlavních komponent (angl. *Discriminant analysis of principal components*, DAPC) (Jombart et al., 2010). V případě nejednoznačnosti odlišení některých pracovních skupin v DAPC diagramu byly rozdíly mezi zvolenými skupinami testovány pomocí Goudetovy G-statistiky (Goudet et al., 1996). Veškeré analýzy vyjma výpočtů spojených s klastrovou analýzou v software STRUCTURE byly provedeny v software R (R Core Team, 2020) za použití balíků „polysat“ (Clark a Jasieniuk, 2011) a „adegenet“ (Jombart, 2008; Jombart a Ahmed, 2011).

Výsledky

4.1 Analýza morfologických parametrů měřených na listech jedinců

4.1.1 Testování rozdílů v jednotlivých měřených parametrech mezi diploidními a tetraploidními jedinci

Pro každý z měřených parametrů byl proveden statistický test rozdílů mezi vzorkovanými diploidními (vyjma *B. nana* a *B. ×seideliana*) a tetraploidními jedinci. V případě splnění předpokladu normality dat pro parametrický test byl pro testování rozdílů použit t-test, v opačném případě Wilcoxonův test. Normalita dat byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu. Výsledky statistického testování jsou uvedeny v Tab. 1.

Statistické testování rozdílů diploidních a tetraploidních jedinců v jednotlivých parametrech ukázalo na statisticky významné výsledky v 6 z 9 parametrů. Statisticky neprůkazné rozdíly byly pozorovány pouze v případě parametrů délka řapíku a úhel báze čepele, v případě parametru úhel vroubení listu byla pozorována marginální insignifikance ($p = 0,08$).

Tetraploidní jedinci vykazovali statisticky vyšší hodnoty velikosti většiny statisticky významně odlišných parametrů, výraznější rozdíl byl pozorován např. u parametru úhel špičky listu, který byl v případě tetraploidů průměrně o 12 % větší, parametru vzdálenost nejširšího místa od báze čepele, který v případě tetraploidů

Tab. 1: Testování rozdílů v jednotlivých parametrech mezi vzorkovanými diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza. Indexy ve sloupci „Parametr“ odpovídají indexům z Obr. 10. Zkratky ve sloupci „Test“: P – parametrický test (t-test), N – neparametrický test (Wilcoxonův test). Jasně odlišitelní jedinci *B. nana* a *B. ×seideliana* nejsou zahrnuti do analýzy.

Parametr	Test	Průměrná hodnota		Hodnota test. stat.	p-hodnota
		Diploidní jedinci	Tetraploidní jedinci		
a	P	41,4	42,7	3,396	<0,001
b	N	32,3	32,6	15 096	0,17
d	N	44,5	50,0	11 236	<0,001
f	P	14,8	14,8	1,411	0,16
g	N	14,7	17,1	6 180	<0,001
h	N	6,0	6,2	14 732	0,08
k	N	12,8	16,3	3 462	<0,001
l	P	12,1	10,9	4,75	<0,001
n	N	50,1	44,7	26 777	<0,001

vykazoval o 16 % vyšší hodnoty v porovnání s diploidními jedinci nebo parametru vzdálenost 4. žilky od špičky čepele, který vykazoval v případě tetraploidů dokonce v průměru o 27 % vyšší hodnoty v porovnání s diploidy. Statisticky významně nižší hodnoty pro tetraploidní vzorky byly pozorovány pouze v případě parametrů vzdálenost 1. zubu od báze čepele, který v případě vzorků tetraploidních jedinců vykazoval v průměru o 9 % nižší hodnoty v porovnání s diploidy a parametru úhel 4. žilky, který v případě tetraploidů vykazoval o 11 % nižší hodnoty v porovnání s diploidními jedinci.

4.1.2 Klasifikační funkce pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza

Klasifikační funkce byla zkonstruována pomocí metody „Shrinkage discriminant analysis“, tj. typ lineární diskriminační analýzy, kde hodnoty jednotlivých prediktorů jsou opraveny o vzájemnou korelaci. Výběr vhodných parametrů pro navržení nové klasifikační funkce byl proveden na základě tzv. „CAT-scores“ (*Correlation-adjusted t-scores*, neboli t-hodnot opravených o vzájemnou korelaci parametrů) (Zuber a Strimmer, 2009). Vypočítané hodnoty CAT-scores jsou uvedeny v Tab. 2.

Parametry byly následně dosazovány do algoritmu v pořadí dle zjištěného CAT-score, tzn. pro každý počet prediktorů byla zkonstruována zvláštní diskriminační

Tab. 2: Měřené listové parametry seřazené dle významnosti pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza (měřeno pomocí CAT-scores; Zuber a Strimmer, 2009). Jasně odlišitelní jedinci *B. nana* a *B. ×seideliana* nejsou zahrnuti do analýzy.

Parametr	Označení (Obr. 10)	CAT-score
Šířka listové čepele v její horní 1/4	j	17,57
Úhel 1. žilky	m	11,49
Vzdálenost nejširšího místa čepele od báze čepele	g	10,85
Vzdálenost 1. zubu čepele od báze čepele	l	8,39
Počet listových žilek	—	3,99
Délka řapíku	b	3,85
Šířka čepele	c	2,10
Úhel špičky listu	d	1,53
Délka čepele	a	1,20

funkce a ověřena její přesnost. Graf vývoje úspěšnosti klasifikační funkce v závislosti na počtu použitých parametrů je uveden na Obr. 11.

Výsledky analýzy vhodných parametrů pro konstrukci klasifikační funkce ukazují na vhodnost použití 2, popřípadě 4 parametrů. V případě použití 2 parametrů má navržená diskriminační funkce tvar

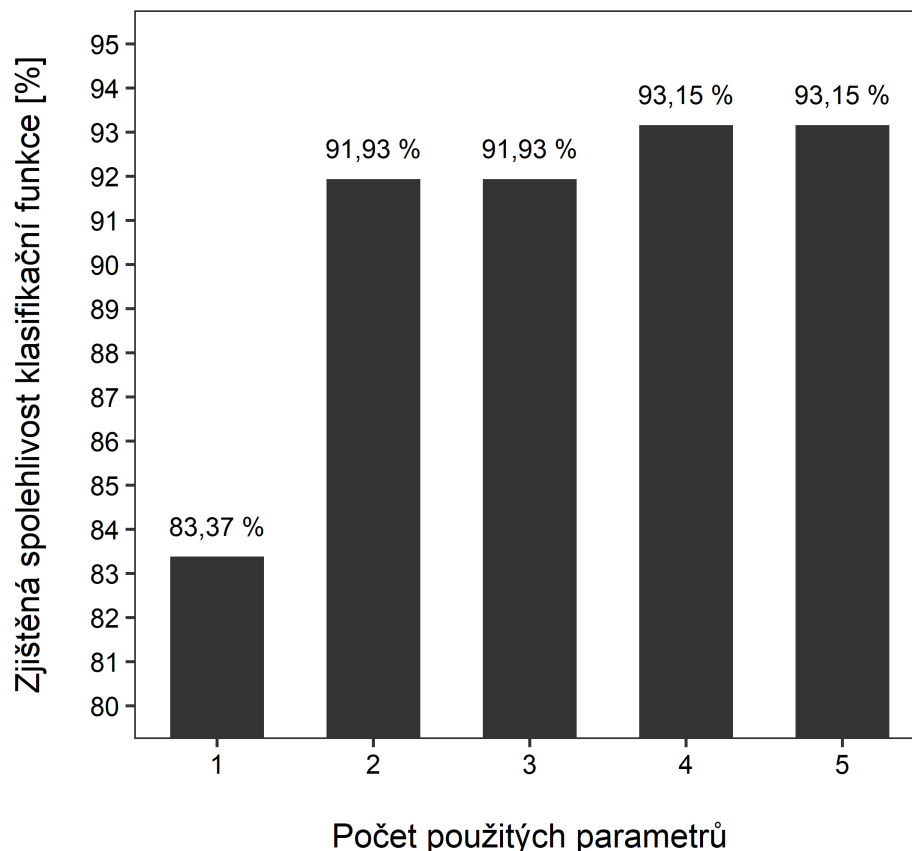
$$D = -4,544 - 0,483 \times j + 0,218 \times m. \quad (4.1)$$

Pokud je výsledek D této funkce > 0 , daný jedinec je určený jako diploidní a naopak. Spolehlivost této funkce je na použitých datech 91,93 %. Použité indexy odpovídají označení z Tab. 2 a Obr. 10.

V případě použití 4 parametrů je navržena funkce ve tvaru

$$D = -7,389 - 0,567 \times j + 0,234 \times m - 0,237 \times g + 0,608 \times l. \quad (4.2)$$

Výsledek funkce je interpretován stejně jako v předchozím případě. Přidání dalších dvou parametrů zlepšilo odhad ploidie měřených jedinců o 1,22 procentního bodu na 93,15 %.



Obr. 11: Závislost spolehlivosti klasifikační funkce pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza na počtu použitých parametrů parametrů z Tab. 2 zařazovaných do funkce podle velikosti CAT-score, jak je uvedeno v Tab. 2. V případě 1 parametru byl tak použit parametr j , v případě 2 parametrů parametry j a m apod. Jasně odlišitelní jedinci *B. nana* a *B. ×seideliana* nebyli zahrnuti do analýzy.

4.1.2.1 Ověření spolehlivosti klasifikačních funkcí pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza

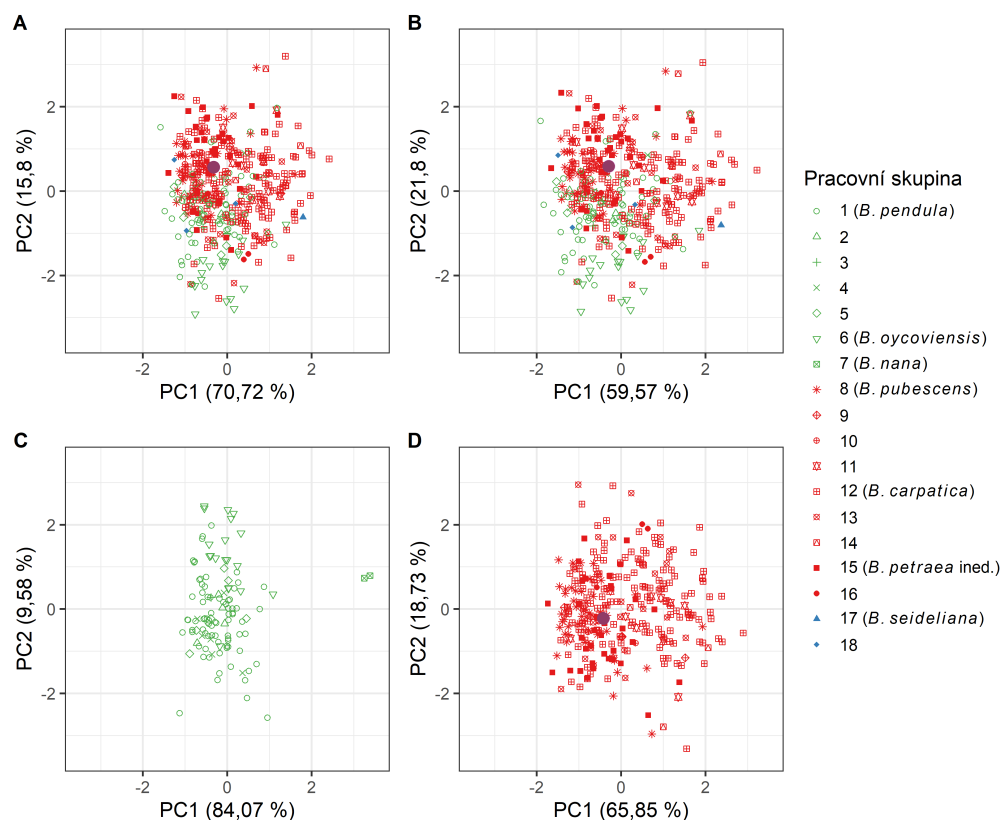
Ověření spolehlivosti v minulosti publikovaných klasifikačních funkcí bylo provedeno na omezeném počtu vzorků (viz kapitola Metodika), důvodem je použití parametru spojeného s přítomností 4 a více listových žilek na listu, což není v některých případech splněno (celkem 7 vzorků). Pozorovaná spolehlivost ověřovaných funkcí byla následovná:

- Klasifikační funkce dle Ešnerové et al. (2012): 83,83 %
- Klasifikační funkce dle Atkinsona a Codlinga (1986): 88,06 %
- Klasifikační funkce dle Lindy (Diplomová práce, 2016): 86,07 %.

V porovnání s funkcí navrženou v této práci (se dvěma parametry) vykazují všechny porovnávané funkce nižší přesnost v průměru cca o 6 procentních bodů.

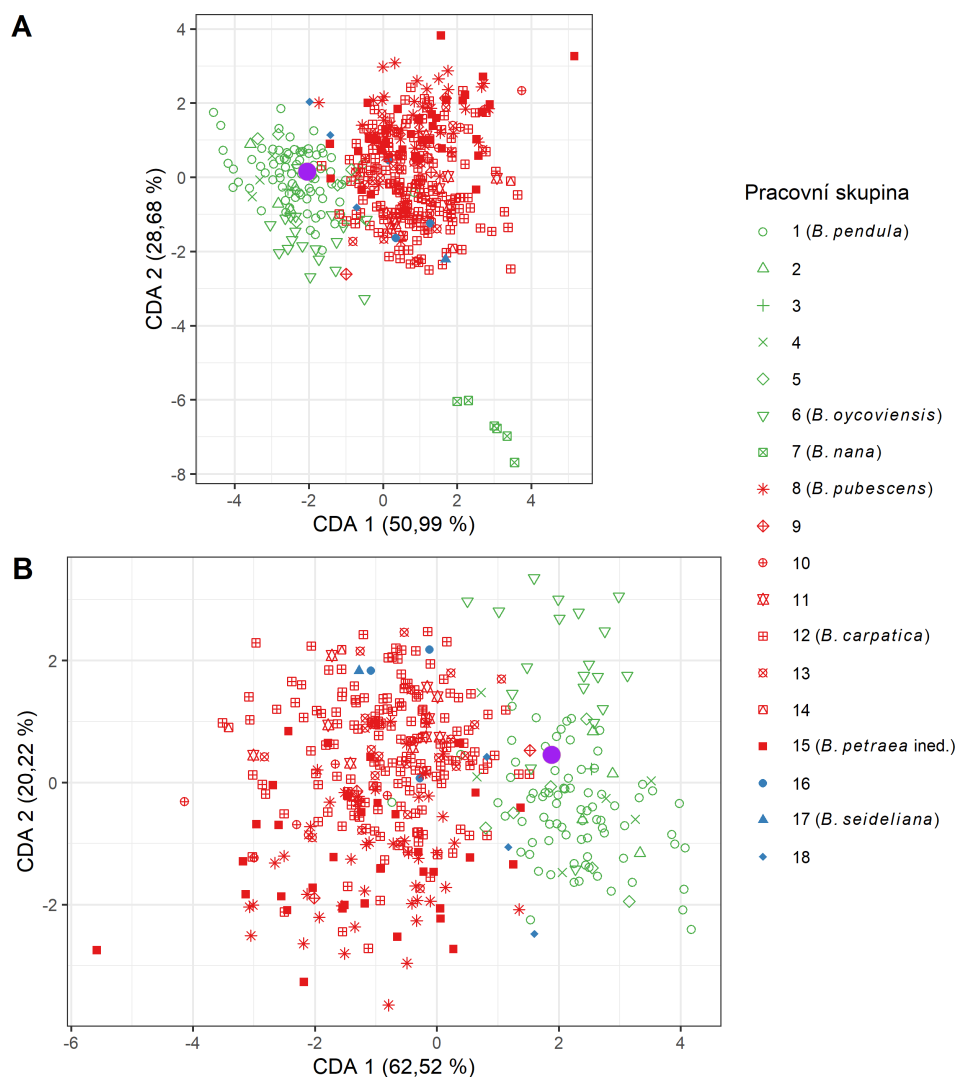
4.1.3 Analýza morfologické variability mezi zájmovými taxony (pracovními skupinami) rodu bříza

Morfologická variabilita mezi všemi zájmovými pracovními skupinami byla analyzována pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) a kanonické diskriminační analýzy (CDA). Tyto analýzy (Obr. 12 a 13) ukázaly na relativně malou variabilitu listové morfologie mezi zvolenými pracovními skupinami/taxony. Ze všech analyzovaných případů se výrazněji odlišily pouze vzorky *B. nana*, méně výrazněji pak vzorky *B. ×oycoviensis*. Diagram PCA i CDA, podobně jako předchozí analýzy, však ukazuje na možnost odlišení diploidních (Obr. 12 a 13, zeleně) a tetraploidních vzorků (Obr. 12 a 13, červeně).



Obr. 12: Výsledky analýzy hlavních komponent (PCA) prezentované v podobě bodového diagramu. Graf A – bodový diagram pro všechny analyzované jedince; B – všechny jedince bez vzorků *B. nana*; C – pouze pro diploidní taxony; D – pouze pro tetraploidní taxony. Fialové body na grafech A, B a D znázorňují pozici originálního vzorku *B. carpatica* z Willdenowova herbáře (Příloha 4). Čísla v legendě značí jednotlivé pracovní skupiny a odpovídají popisu v sekci Taxony zahrnuté do studie. Diploidní vzorky jsou symbolizovány zelenou značkou, tetraploidní vzorky červenou. Čísla v závorkách v popiskách os značí procento „vysvětlené“ variability danou osou. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

Mnohorozměrná analýza variance (MANOVA) ukázala na statisticky významné rozdíly mezi listovou morfologií jednotlivých vybraných pracovních skupin (MANOVA, Pillai-stopa = 1,953, $p < 0,001$), a to i po odebrání odlišujících se vzorků z předchozí PCA analýzy – *B. nana*, jí příbuzná *B. ×seideliana* a *B. ×oycoviensis* (MANOVA, Pillai-stopa = 1,411, $p < 0,001$).



Obr. 13: Výsledky kanonické diskriminační analýzy prezentované ve formě bodového diagramu (scatterplotu). Graf A – bodový diagram pro všechny analyzované jedince; B – bodový diagram pro všechny jedince bez vzorků *B. nana*. Fialové body v grafech znázorňují pozici originálního vzorku *B. carpatica* z Willdenowova herbáře (Příloha 4). Čísla v legendě značí jednotlivé pracovní skupiny a odpovídají popisu v sekci Taxony zahrnuté do studie. Diploidní vzorky jsou symbolizovány zelenou značkou, tetraploidní vzorky červenou. Čísla v závorkách v popiskách os značí procento „vysvětlené“ variability danou osou. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

4.1.4 Analýza morfologické variability mezi studovanými populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré

Jako prvotní analýza bylo provedeno statistické testování rozdílů mezi velikostmi měřených parametrů, v tomto případě mezi typickými vzorky břízy bělokoré a břízy

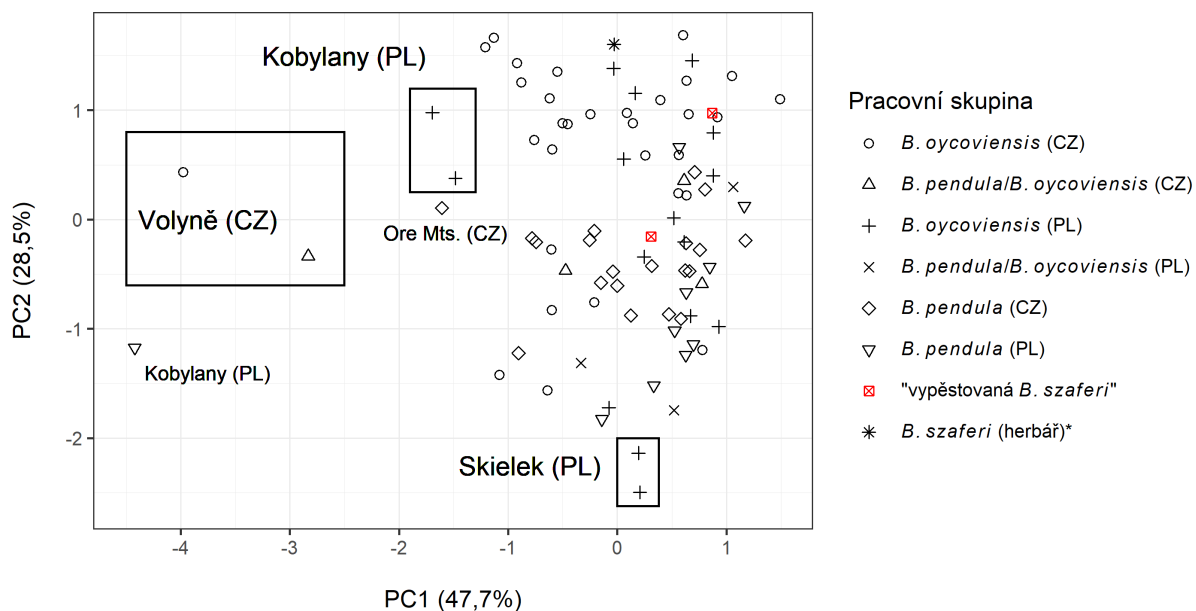
ojcovské z ČR i Polska (které vykazovaly alespoň 80 % znaků pro příslušný druh). Testování rozdílů v každém ze 16 měřených parametrů ukázalo statisticky významné výsledky ve 13 případech (u všech zkoumaných parametrů kromě délky řapíku, úhlu nasazení báze čepele a úhlu báze čepele, viz Tab. 3).

Tab. 3: Testování rozdílů v jednotlivých parametrech mezi vzorkovanými typickými jedinci břízy bělokoré a břízy ojcovské (vzorky, které vykazují alespoň 80 % znaků uváděných v relevantní literatuře). Hodnocené soubory zahrnují jedince z ČR i Polska. Indexy ve sloupci „Parametr“ odpovídají indexům z Obr. 10. Zkratky ve sloupci „Test“: P – parametrický test (t-test), P* – Welchův test (modifikovaný t-test pro datové sady s rozdílnými rozptyly), N – neparametrický test (Wilcoxonův test). Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

Parametr	Test	Průměrná hodnota		Hodnota test. stat.	p-hodnota
		<i>B. × oycoviensis</i>	<i>B. pendula</i>		
a	N	33,9	43,1	239,5	<0,001
b	P	15,2	15,8	0,823	0,413
c	N	25,6	33,9	235,0	<0,001
d	P*	47,5	40,1	3,485	<0,001
e	N	292,6	299,6	553,5	0,115
f	N	245,3	239,2	889,5	0,055
g	N	11,6	13,7	440,0	0,006
h	P*	74,6	63,2	3,751	<0,001
i	N	4,8	6,0	294,0	<0,001
j	N	10,2	12,0	403,0	0,002
k	N	19,1	31,0	197,5	<0,001
l	N	11,7	14,3	291,0	<0,001
m	P*	56,4	65,1	3,532	<0,001
n	P	30,3	32,5	2,109	0,038
x	N	6,0	7,8	204,0	<0,001
y	N	1,6	2,7	289,0	<0,001

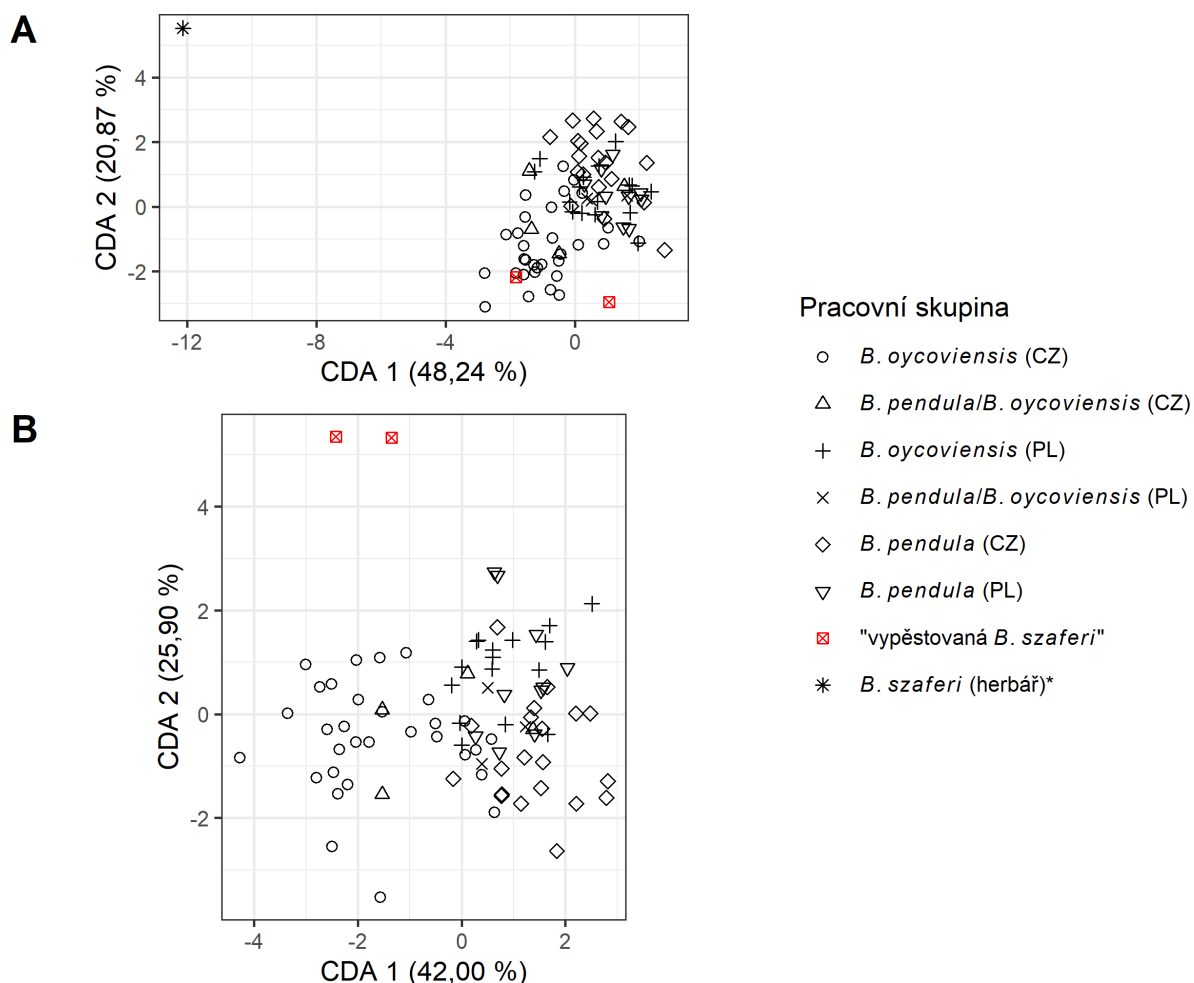
S výjimkou parametrů úhel špičky listu (*d*), úhel nasazení báze (*e*) a úhel vroubení listu (*h*) byly pozorovány vyšší hodnoty u všech měřených parametrů v případě břízy bělokoré. Nejvýznamnější rozdíly byly pozorovány v případě parametrů vzdálenost 4. žilky od špičky čepele (*k*), který vykazoval v průměru o 62 % vyšší hodnoty u vzorků břízy bělokoré v porovnání s břízou ojcovskou, šířka listu (*c*), která byla v případě břízy bělokoré v průměru o 32 % větší nebo délky listové čepele (*a*), která byla v případě břízy bělokoré větší o 27 %. Naopak parametry úhel špičky listu (*d*) a úhel vroubení listu (*h*) vykazovaly vyšší hodnoty v případě břízy ojcovské, a to o 18 % v obou případech.

V bodovém grafu analýzy hlavních komponent (PCA) se v případě studie morfologické variability mezi populacemi břízy bělokoré a břízy ojcovské v ČR odlišilo pouze několik jedinců, pravděpodobně z důvodu náhodné individuální variability. Bříza ojcovská vzorkovaná na území ČR vytvořila mírně se odlišující shluk bodů v horní části mračna bodů všech vzorků. Oproti CDA analýze, kde se původní vzorek *B. szaferi* objevil zcela mimo mračno bodů všech ostatních vzorků, se tento vzorek v PCA diagramu objevil na okraji hlavního shluku bodů.



Obr. 14: Výsledky analýzy hlavních komponent všech vzorkovaných jedinců (PCA) z ČR (CZ) a Polska (PL) prezentované v podobě bodového diagramu. Čísla v závorkách v popiskách os značí procento „vysvětlené“ variability danou osou.

Mnohorozměrná analýza variance (MANOVA) ukázala statisticky významné rozdíly mezi zvolenými pracovními skupinami (Pillai-stopa = 2,902, $p < 0,001$) a to i po odebrání jasně se odlišujícího vzorku *B. szaferi* z herbáře (Pillai-stopa = 2,235, $p < 0,001$). Diagram CDA analýzy bez vzorku *B. szaferi* z herbáře v Krakově je uveden na Obr. 15B.



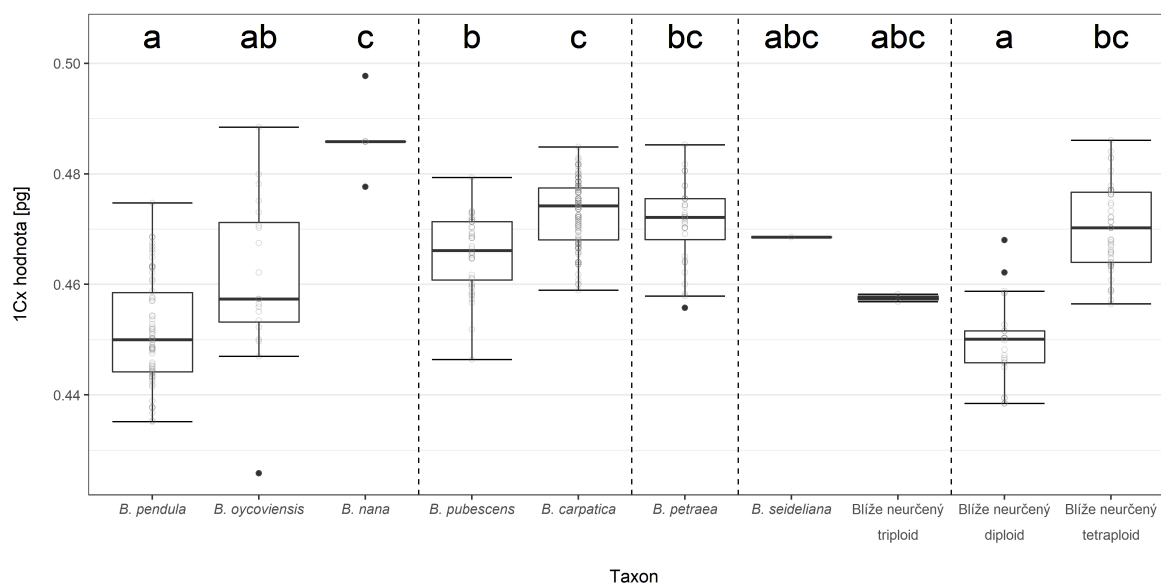
Obr. 15: Výsledky kanonické diskriminační analýzy prezentované ve formě bodového diagramu (scatterplotu). Graf A – bodový diagram pro všechny analyzované jedince; B – bodový diagram pro všechny jedince bez vzorků *B. szaferi* z herbáře v Krakově. Čísla v závorkách v popiskách os značí procento „vysvětlené“ variability danou osou. Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

Kanonická diskriminační analýza (CDA) ukázala na jednoznačné odlišení originálního vzorku *B. szaferi* od ostatních vzorkovaných jedinců (Obr. 15) na základě listové morfologie. Po odebrání tohoto vzorku z analýzy se dále ukázaly morfologické odlišnosti vzorků „vypěstované *B. szaferi*“, avšak jelikož tyto vzorky byly vybrány právě dle jejich morfologické odlišnosti, bylo jejich vylišení v rámci morfometrických analýz očekávané. Drobné odlišnosti lze pozorovat i mezi vzorky břízy ojcovské z české a polské populace, či mezi vzorky břízy ojcovské a břízy bělokoré – tyto odlišnosti již byly potvrzeny předchozí analýzou.

4.2 Analýza velikosti genomu

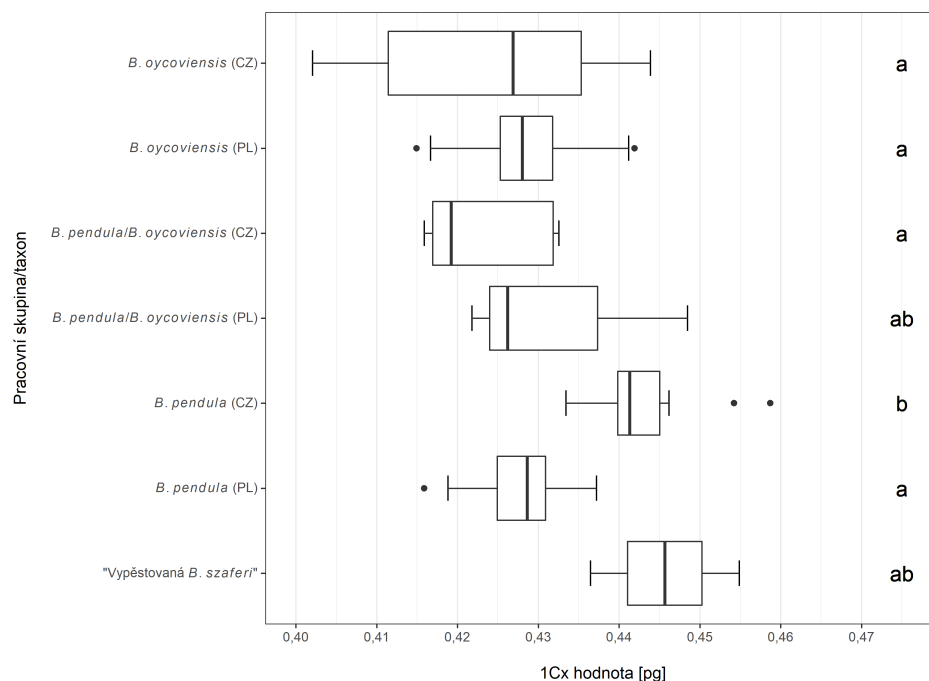
Pro porovnání velikosti genomu byla použita tzv. 1Cx hodnota (sensu Greilhuber, 2005), neboli velikost holoploidního genomu v pg. Porovnání velikosti genomu bylo provedeno zvláště pro studii variability tohoto ukazatele mezi populacemi diploidních a tetraploidních taxonů rodu bříza na území České republiky a pro porovnání variability mezi populacemi břízy bělokoré a břízy ojcovské v ČR a v Polsku.

V obou případech byl pro porovnání použit Kruskal-Wallisův test z důvodu nesplnění podmínky normality dat v každé z odlišených skupin (pro možnost použití analýzy rozptylu). V případě porovnání taxonů diploidních a tetraploidních bříz z území České republiky byly pozorovány statisticky významné rozdíly (Kruskal-Wallisův test, $\chi^2 = 227,2$, $df = 9$, $p < 0,001$) podobně jako v případě porovnání populací břízy bělokoré a břízy ojcovské v ČR a v Polsku (Kruskal-Wallisův test, $\chi^2 = 32,31$, $df = 6$, $p < 0,001$). Pro grafické zobrazení výsledků viz Obr. 16.



Obr. 16: Krabicový graf velikosti genomu (reprezentovaného tzv. 1Cx hodnotou; Greilhuber et al., 2005) pro studované pracovní jednotky v rámci analýzy genetické variability diploidních a tetraploidních taxonů rodu bříza na území ČR. Silná čára v grafu značí medián pro každou variantu, krabice horní a spodní kvartil dat, „vousy“ značí minimum a maximum bez odlehlých hodnot. Odlehlé hodnoty jsou ty, které nespádají do intervalu (spodní kvartil – 1,5krát mezikvartilové rozpětí; horní kvartil + 1,5krát mezikvartilové rozpětí) a jsou označeny tečkou. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

Pro mnohonásobná porovnání mezi variantami byla použita metoda dle publikace Siegela a Castellana (1988). Výsledky mnohonásobného porovnání jsou prezentovány ve formě indexů u každé krabice v krabicovém grafu. Statisticky významně odlišné varianty jsou označeny odlišným indexem.



Obr. 17: Krabicový graf velikosti genomu (reprezentovaného tzv. 1Cx hodnotou; Greilhuber et al., 2005) pro studované pracovní jednotky v rámci analýzy genetické variability mezi populacemi břízy bělokoré a břízy ojcovské z ČR a Polska. Silná čára v grafu značí medián pro každou variantu, krabice horní a spodní kvartil dat, „vousy“ značí minimum a maximum bez odlehlých hodnot. Odlehlé hodnoty jsou ty, které nespádají do intervalu (spodní kvartil – 1,5krát mezikvartilové rozpětí; horní kvartil + 1,5krát mezikvartilové rozpětí) a jsou označeny tečkou. Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

V případě analýzy velikosti genomu mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza na území ČR byla pozorována statisticky významná odlišnost 1Cx hodnoty vzorků *B. nana* od ostatních diploidních jedinců rodu bříza. V případě tetraploidů byla obecně pozorována vyšší průměrná 1Cx hodnota v porovnání s diploidy, statisticky významná odchylka byla pozorována specificky pro *B. carpatica*, jejíž 1Cx hodnota byla statisticky významně větší než v případě diploidních vzorků, ale i *B. pubescens*. Vzorky blíže neurčených tetraploidních vzorků vykazovaly vyšší 1Cx hodnotu v porovnání s *B. pubescens*, avšak nižší hodnotu v porovnání s *B. carpatica*.

Podobně, *B. ×oycoviensis* vykazovala 1Cx hodnoty vyšší než v případě *B. pendula* i blíže neučených diploidních vzorků, avšak nižší v porovnání s *B. nana*.

Analýzy velikosti genomu populací břízy bělokoré a břízy ojcovské z území ČR a Polska byla prokázala statisticky významnou odlišnost pouze v případě *B. pendula* z území ČR od ostatních vzorkovaných jedinců. Tento rozdíl může však být způsoben relativně vysokou variabilitou velikosti genomu u tohoto druhu (více informací viz kapitola Diskuse).

4.3 Analýza mikrosatelitů (analýza genetické variability)

4.3.1 Analýza genetické variability mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza na území ČR

Ve studii genetické variability diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza na území ČR byla jako prvotní analýza provedena analýza počtu zjištěných alel na každém ze studovaných okusů. Pro každý z lokusů byla taktéž zjištěna proporce sdílených alel a počet jedinečných alel pro diploidní a tetraploidní vzorky. Výsledky tohoto souhrnu jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4: Počty sdílených a jedinečných alel pro diploidní a tetraploidní jedince dle jednotlivých lokusů. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

Lokus	Počet sdílených alel	Celkový počet alel	Proporce sdílených alel	Počet jedinečných alel	
				$2n = 2x$	$2n = 4x$
L012	9	23	0,39	2	12
L022	16	21	0,76	1	4
L27	20	25	0,80	0	5
L31	8	13	0,62	2	3
L34	11	15	0,73	1	3
L54	18	20	0,90	0	2
L71	8	15	0,53	0	7
L78	12	16	0,75	0	4
Bema1	3	6	0,50	0	3
Bema7	6	10	0,60	1	3
Bema11	7	13	0,54	1	5
Bep13	10	14	0,71	2	2
SUMA	128	191	0,67	10	53

Na 12 sledovaných lokusech (detailní popis každého lokusu je uveden v Příloze 3) bylo celkem identifikováno 191 alel. Nejvíce alel bylo zjištěno na lokusech označených

„L27“ (25 alel), „L012“ (23 alel), „L022“ (21 alel), nejméně pak na lokusu označeném „Bema1“, kde bylo identifikováno pouze 6 alel. Nejnižší poměr sdílených alel byl pozorován na lokusu „L012“, a to 39 %. Celková proporce sdílených alel (napříč všemi lokusy) je 67 %, což značí allopolyploidní původ tetraploidních vzorků. Tento závěr naznačují i počty jedinečných alel, kdy v případě diploidních vzorků bylo identifikováno 10 jedinečných alel (tzn. těch, které se vyskytovaly výhradně u vzorků diploidních jedinců), v případě tetraploidů bylo pozorováno 53 jedinečných alel (tyto alely se vyskytovaly výhradně u vzorků tetraploidních jedinců).

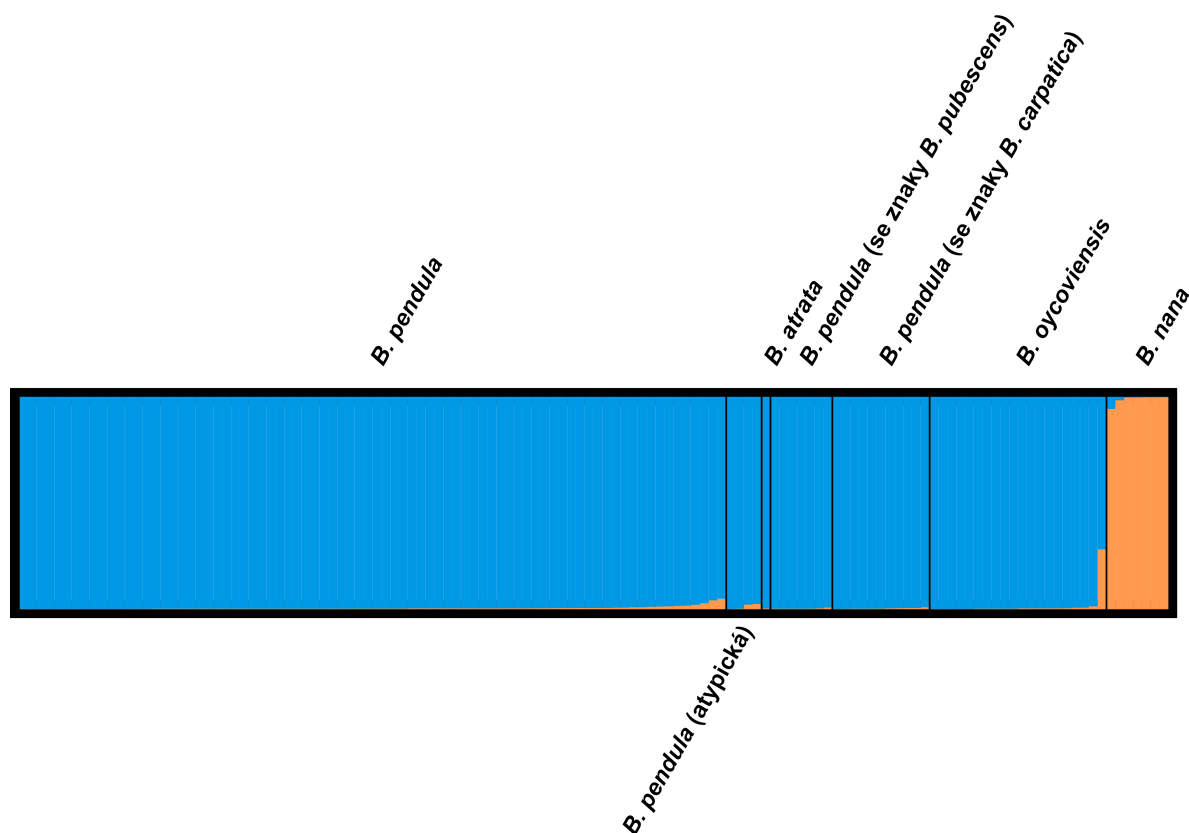
Mikrosatelitová data byla následně rozdělena na vzorky diploidních a tetraploidních jedinců a byla provedena analýza nejpravděpodobnějšího počtu geneticky odlišných skupin v datasetu (viz kapitola 3.8.3).

V případě diploidů se ukázala jako nejpravděpodobnější možnost dva klastry, výsledky tak naznačují, že veškeré vzorkované diploidní jedince lze rozdělit do dvou geneticky odlišných skupin (Tab. 5).

Tab. 5: Odhad nejpravděpodobnějšího počtu skupin v datasetu (K) diploidních jedinců pomocí metody dle publikace Evanno et al. (2005). Nejpravděpodobnější výsledek je určen dle parametru ΔK (nejvyšší hodnota značí nejpravděpodobnější výsledek, zde $K = 2$) a je v tabulce zvýrazněn šedou barvou. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019).

K	Opak.	Mean Ln P(K)	SD Ln P(K)	Ln' (K)	Ln'' (K)	ΔK
1	20	-4745,4	0,82	—	—	—
2	20	-4510,5	1,27	234,9	269,6	212,4
3	20	-4545,3	36,02	-34,8	6,6	0,2
4	20	-4573,4	38,95	-28,1	17,2	0,4
5	20	-4584,3	59,22	-10,9	90,7	1,5
6	20	-4685,8	125,74	-101,6	40,9	0,3
7	20	-4828,3	113,88	-142,5	50,7	0,4
8	20	-5021,5	235,74	-193,2	86,8	0,4
9	20	-5127,9	180,37	-106,4	47,7	0,3
10	20	-5186,6	133,99	-58,7	—	—

Klastrovací analýza ukázala jasné rozdělení vzorků při nastavení klastrování do dvou skupin ($K = 2$); *B. nana* vytvořila jasné oddělený klastr od skupiny všech ostatních diploidních vzorků zařazených do analýzy, viz Obr. 18.



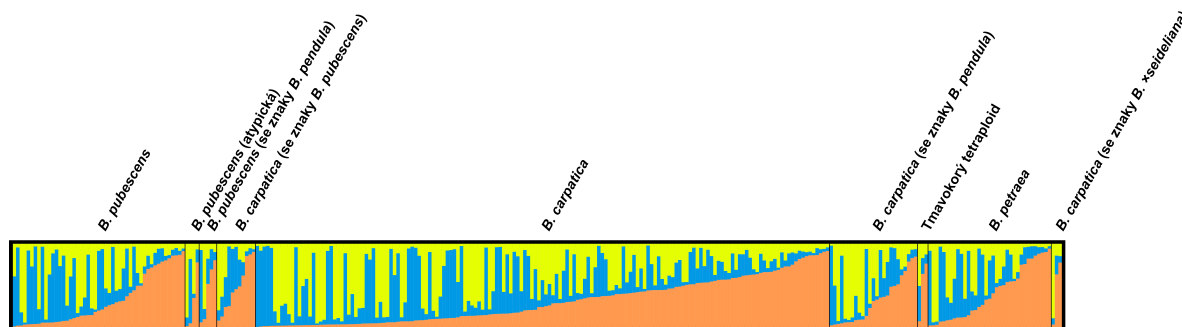
Obr. 18: Výsledky klastrové analýzy v software STRUCTURE ($K = 2$) pro diploidní jedince rodu bříza z území ČR (přesněji Českého masivu). Osa Y značí pravděpodobnost přiřazení ke každé z vylíšených skupin (označených různou barvou). Každý sloupeček na ose X značí jednoho vzorkovaného jedince. Celkem byly odlišeny dva klastry: (1) *B. pendula*, *B. ×oycoviensis* a příbuzné taxony a (2) *B. nana*. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

V případě tetraploidních vzorků byl pravděpodobný počet skupin v datasetu odhadnut na $K = 3$, nicméně „určení“ tohoto počtu je v případě tetraploidních jedinců mnohem méně jednoznačné (max. $\Delta K = 9,9$ oproti diploidním vzorkům, kde max. $\Delta K = 212,4$), viz Tab. 6.

Tab. 6: Odhad nejpravděpodobnějšího počtu skupin v datasetu (K) tetraploidních jedinců pomocí metody dle publikace Evanno et al., 2005. Nejpravděpodobnější výsledek ($K = 3$) je zvýrazněn šedou barvou. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019).

K	Opak.	Mean Ln P(K)	SD Ln P(K)	Ln' (K)	Ln'' (K)	ΔK
1	20	-25264,8	0,40	—	—	—
2	20	-24944,6	9,42	320,2	39,6	4,2
3	20	-24664,0	6,01	280,6	59,5	9,9
4	20	-24442,9	9,33	221,1	74,9	8,0
5	20	-24296,8	42,48	146,2	4,3	0,1
6	20	-24146,3	27,78	150,5	34,3	1,2
7	20	-24030,2	19,49	116,1	16,2	0,8
8	20	-23930,2	26,59	100,0	24,8	0,9
9	20	-23855,0	44,92	75,2	24,3	0,5
10	20	-23755,5	40,51	99,5	48,2	1,2
11	20	-23704,3	66,17	51,3	6,1	0,1
12	20	-23646,9	63,94	57,4	—	—

Klastrová analýza tetraploidních vzorků jasně neodlišila žádný ze studovaných taxonů, naopak, ukázala na variabilitu napříč všemi pracovními skupinami (gradient), viz Obr. 19.



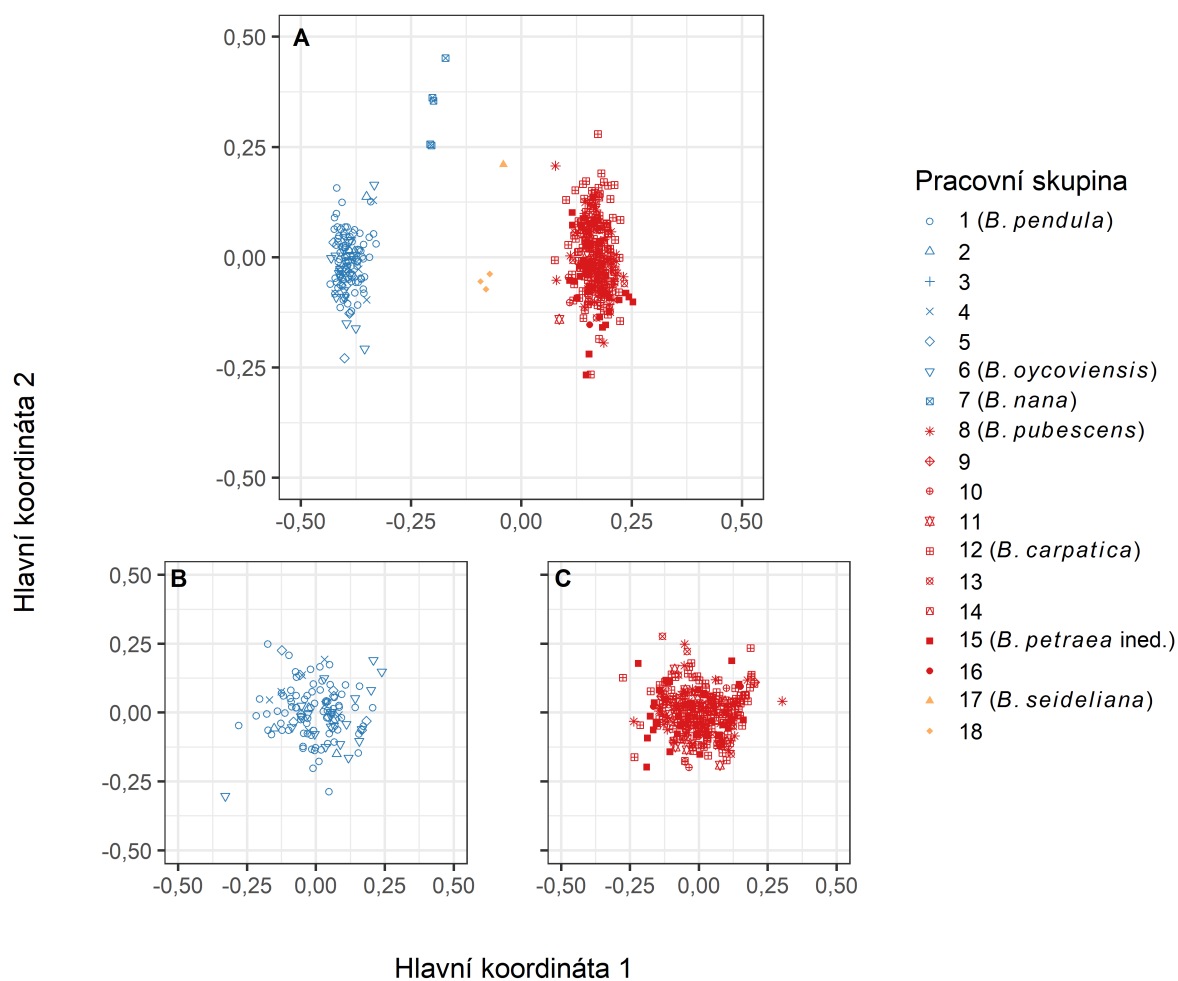
Obr. 19: Výsledky klastrové analýzy v software STRUCTURE ($K = 3$) pro tetraploidní jedince rodu bříza z území ČR (přesněji Českého masivu). Osa Y značí pravděpodobnost přiřazení ke každé z vylišených skupin (označených různou barvou). Každý sloupeček na ose X značí jednoho vzorkovaného jedince. Mezi analyzovanými vzorky nebyly odlišeny žádné klastry (skupiny), veškeré vzorky tak tvoří jednu variabilní genetickou skupinu. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

Analýza hlavních koordinát (PCoA) provedená pro diploidní, triploidní i tetraploidní jedince zároveň ukázala na jasné odlišení jedinců s různou ploidií, avšak v rámci skupin vytvořily vzorky kompaktní mračno bodů ukazující na vysokou

vnitrodruhovou genetickou variabilitu, avšak nízkou mezidruhovou (meziskupinovou) variabilitu. Jedinými vzorky, které se jasně odlišovaly od ostatních, jsou vzorky *B. nana*.

V rámci vzorků triploidních jedinců byl odlišen vzorek *B. ×seideliana* od ostatních vzorků, pravděpodobně kříženců jedinců z okruhu *B. pubescens* a *B. pendula*, což odpovídá rozdílnosti původu těchto triploidních taxonů.

Žádné odlišitelné genetické skupiny nebyly identifikovány ani v případě samostatné analýzy diploidních a tetraploidních jedinců (Obr. 20B a C).



Obr. 20: Analýza hlavních koordinát (PCoA) provedená na základě genetických vzdáleností dle Bruvo et al. (2004) dohromady pro všechny vzorkované jedince z Českého masivu – 130 diploidních, 298 tetraploidních a 4 triploidní jedinci byli analyzováni (graf A). Graf B představuje bodový diagram PCoA analýzy pro diploidní jedince bez jasně se odlišující *B. nana*, graf C představuje bodový diagram analýzy pro tetraploidní jedince. Pracovní skupiny vzorků jsou označeny dle popisu v sekci Metodika. Převzato z publikace Kuneše et al. (2019) a upraveno.

4.3.2 Analýza genetické variability mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré v ČR a v Polsku

Počet jedinečných alel pro každou z analyzovaných pracovních skupin je uveden v Tab. 7. Tento údaj nebylo možné zjistit pro vzorek *B. szaferi* odebraný v krakovském herbáři, jelikož u tohoto vzorku nebylo možné identifikovat alely na všech zvolených lokusech. Nejvyšší počet jedinečných alel na jeden odebraný vzorek byl pozorován v případě „outlierových“ taxonů *B. humilis* a *B. nana*. Naopak nejnižší počet jedinečných alel byl pozorován v případě českých a polských populací břízy ojcovské a břízy bělokoré, což značí na jejich genetickou podobnost v rámci vzorků odebraných taxonů (Tab. 7).

Tab. 7: Počty jedinečných alel pro každou ze zvolených pracovních skupin pro studii genetické variability mezi populacemi břízy bělokoré a břízy ojcovské na území ČR a Polska. Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

Taxon/skupina	Jedinečné alely	Počet vzorků	Počet jedinečných alel na jeden vzorek
<i>B. ×oycoviensis</i> (CZ)	6	35	0,17
<i>B. ×oycoviensis</i> (PL)	2	25	0,08
<i>B. pendula</i> (CZ)	10	20	0,50
<i>B. pendula</i> (PL)	1	10	0,10
„vypěstovaná“ <i>B. szaferi</i>	2	3	0,67
<i>B. humilis</i>	5	1	5,00
<i>B. nana</i>	4	1	4,00

F-statistika ukázala na celkově nízkou genetickou variabilitu v rámci zájmových taxonů ($F_{IT} = 0,1088$), z čehož 23 % připadlo na populační variabilitu ($F_{ST} = 0,0105$, $F_{IS} = 0,0799$). Po odstranění geneticky vzdálenějších taxonů (*B. nana* a *B. humilis*) připadlo na populační variabilitu pouze 12 % celkové variability ($F_{ST} = 0,0105$, $F_{IS} = 0,0799$).

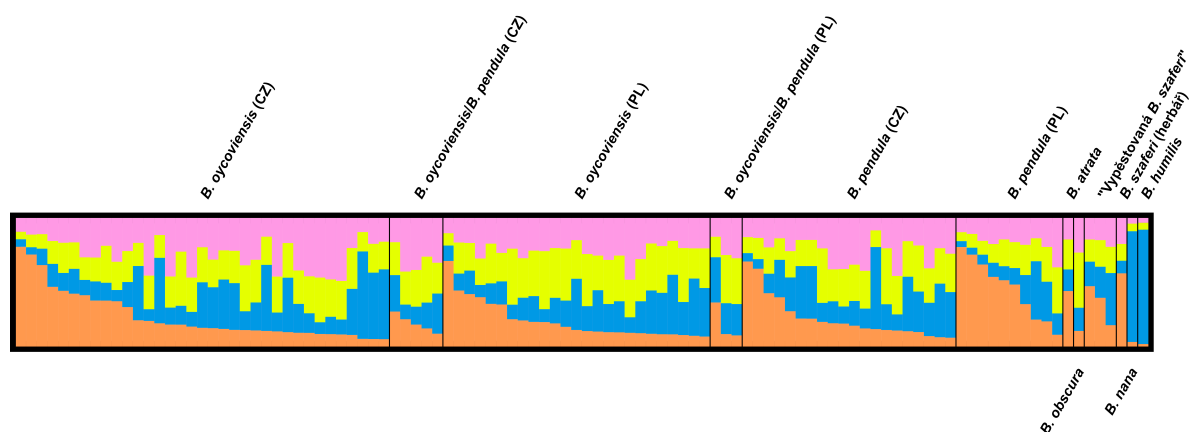
Stejně jako v předchozím případě byla nejprve provedena analýza nejpravděpodobnějšího počtu geneticky odlišných skupin, určení pravděpodobného počtu skupin mezi studovanými vzorky je však v tomto případě problematické.

Parametr ΔK , dle kterého je tento počet skupin určen (varianta s nejvyšší hodnotou tohoto parametru je určena jako nejpravděpodobnější) vykazoval velmi podobné hodnoty pro $K = 2$ až $K = 6$ a dále pro $K = 13$. Tyto hodnoty se pohybují od 0,2 do 0,8; takto malé rozpětí signalizuje značnou neurčitost a může být do značné míry ovlivněno náhodnými jevy.

Tab. 8: Odhad nejpravděpodobnějšího počtu skupin (K) v datasetu jedinců břízy bělokoré a břízy ojcovské pomocí metody dle publikace Evanno et al. (2005). Nejpravděpodobnější výsledek ($K = 4$) je zvýrazněn šedou barvou. Převzato z publikace Lindy et al. (2020).

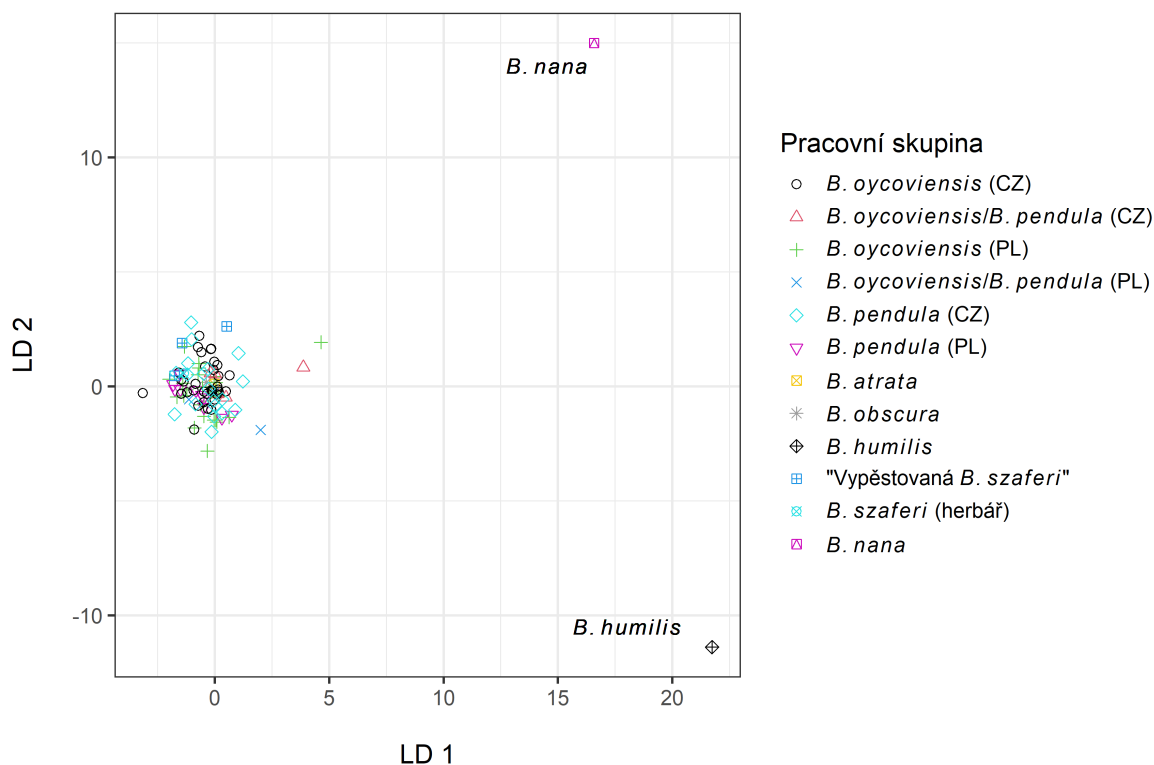
K	Opak.	Mean Ln P(K)	SD Ln P(K)	Ln' (K)	Ln'' (K)	ΔK
1	30	-3370,0	0,85	—	—	—
2	30	-3396,7	22,95	-26,7	10,2	0,4
3	30	-3433,7	19,76	-37,0	4,9	0,2
4	30	-3465,7	57,66	-32,0	47,3	0,8
5	30	-3545,0	97,81	-79,3	50,7	0,5
6	30	-3675,1	121,73	-130,0	22,2	0,2
7	30	-3782,9	113,10	-107,8	9,5	0,1
8	30	-3900,1	112,93	-117,3	16,0	0,1
9	30	-4001,4	134,17	-101,2	61,3	0,5
10	30	-4041,3	197,25	-39,9	5,5	0,0
11	30	-4075,7	182,27	-34,4	0,9	0,0
12	30	-4111,0	196,84	-35,3	35,4	0,2
13	30	-4110,9	132,18	0,0	65,4	0,5
14	30	-4176,3	157,14	-65,4	40,1	0,3
15	30	-4201,6	202,44	-25,3	—	—

Jako nejpravděpodobnější varianta předchozí analýzou identifikována ta s nastavením $K = 4$. Analýza s tímto nastavením neukázala žádnou jasně odlišitelnou skupinu kromě vzorků *B. nana* a *B. humilis* – veškeré vzorky břízy bělokoré a břízy ojcovské, včetně přechodových pracovních skupin z obou států tak byly zahrnuty v jedné variabilní skupině.



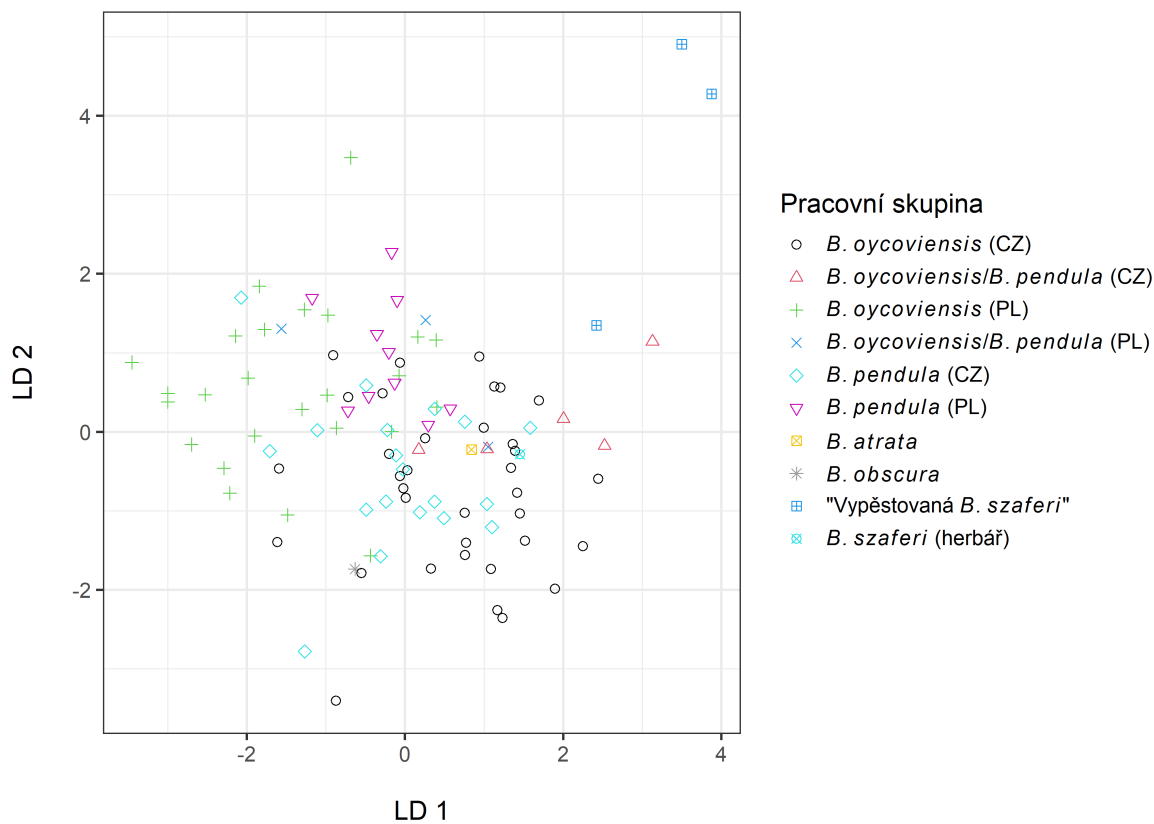
Obr. 21: Výsledky klastrové analýzy v software STRUCTURE ($K = 4$) pro vzorkované jedince břízy bělokoré a břízy ojcovské ze studovaných populací v ČR a v Polsku. Osa Y značí pravděpodobnost přiřazení ke každé z vylíšených skupin (označených různou barvou). Každý sloupeček na ose X značí jednoho vzorkovaného jedince. S výjimkou referenčních vzorků *B. nana* a *B. humilis* nebyly mezi analyzovanými vzorky odlišeny žádné klastry (skupiny), veškeré vzorky tak tvoří jednu variabilní genetickou skupinu. Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

Tyto závěry byly potvrzeny i DAPC (Discriminant Analysis of Principal Components) analýzou, kdy se od hlavního mračna bodů v DAPC diagramu oddělily pouze vzorky *B. nana* a *B. humilis* (Obr. 22).



Obr. 22: Bodový diagram DAPC analýzy pro všechny vzorkované jedince. Vzorky jasně odlišitelných jedinců jsou popsány v diagramu. Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

Pokud byly tyto vzorky odebrány z analýzy, veškeré vzorky vytvořily kompaktní mračno bodů bez výraznějších odchylek – drobné odchylky byly pozorovány pouze u vzorků „vypěstované *B. szaferi*“ (Obr. 23).



Obr. 23: Bodový diagram DAPC analýzy pro všechny vzorky vyjma jasně odlišitelných jedinců z předchozí analýzy (Obr. 22). Rozdíly mezi skupinami byly statisticky testovány pomocí Goudetovy G-statistiky, která ukázala na statisticky nevýznamné odlišnosti (100 000 iterací, $p = 0,68$). Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

Diskuse

Taxonomické dělení rodu bříza je pro častou hybridizaci a zpětnou introgresi mezi jedinci různých taxonů stále neujasněné a zařazení mnoha nižších taxonů rodu bříza je sporné (Atkinson, 1992; Howland et al., 1995; Järvinen et al., 2004). Na území ČR se jedná zejména o břízu karpatskou (*B. carpatica* W. et K.), břízu ojcovskou (*B. ×oycoviensis* BESSER), břízu skalní (*B. petraea* SÝKORA ined.) a tmavokoré nižší taxony příbuzné bříze bělokoré (*B. obscura* KOTULA ex FIEK a *B. atrata* DOMIN) (Hejtmánek, 1956; Sýkora, 1983; Kuneš et al., 2019; Linda et al., 2020). Většina těchto taxonů nemá lesnické využití a vyskytují se pouze v malých oddělených populacích, upřesnění jejich taxonomické pozice tak může sloužit pro účely ochrany přírody či v doplnění primárních taxonomických znalostí.

Výjimkou z výše jmenovaných případů je bříza karpatská (*B. carpatica*), která našla praktické lesnické využití při obnově imisně poškozených lesních porostů v severní části ČR jako přípravná dřevina, i když pouze v omezené míře, zejména kvůli jejímu nejistému taxonomickému zařazení (Balcar, 2001; Kuneš et al., 2007; Balcar et al., 2007). Jedinci břízy karpatské tak, jak jsou popisováni např. v publikaci Úradníčka (2001) či Hejného et Slavíka (2003) byly provozně využívány pro obnovu imisně poškozených porostů spolu s břízou pýřitou, pod kterou se taxonomicky sdružovali. Bříza karpatská, tak jak ji popisují výše zmíněné publikace (tj. jako samostatný druh) nebyla odlišována ani legislativně (změna proběhla v roce 2018 s vyhláškou MZe 298/2018 Sb.), nicméně tuzemská odborná literatura doporučovala využití tohoto taxonu pro určité podmínky (zejména vyšší nadmořské výšky) (Vacek a Balcar, 1999; Balcar, 2001). Pro odlišení „břízy karpatské“ zejména od břízy pýřité však neexistovaly (a neexistují) spolehlivé znaky a jejich rozlišování tak bylo značně subjektivní.

Obecně popisované znaky (např. Kubát, 2002; Kříž, 2003 nebo Buriánek et al., 2014) jsou často uvedeny příliš obecně a v praxi nejsou pro odlišení „břízy karpatské“ použitelné. Tento fakt se stal základem pro výzkum prezentovaný i v této práci.

Výsledky této a také předchozích prací jiných autorů však ukazují, že bříza pýřitá a bříza karpatská patří do geneticky kompaktní skupiny, drobné fenotypové odlišnosti mohou být způsobeny velmi malými genetickými diferencemi a bříza karpatská je v recentních studiích zařazována jako poddruh břízy pýřité (Gardiner, 1972; Christensen, 1983; Walters, 1993; Ashburner a McAllister, 2013). Znalost těchto genetických vztahů má tedy významný praktický dopad a použití „břízy karpatské“ jako meliorační či přípravné dřeviny lze díky těmto znalostem v případě potřeby optimalizovat. Zde je vhodné zmínit i výhodu možnosti odlišení tetraploidních od diploidních jedinců bříz, taktéž zkoumané v této studii i v minulosti jinými autory. Diploidní břízy v extrémních horských podmínkách vykazovaly horší vlastnosti v porovnání s tetraploidními jedinci (Balcar, 2001), či dokonce nebyly schopné vytvořit porost, který by plnil funkce přípravného lesa, viz například vzorové porosty z výzkumné plochy Jizerka (Obr. 7).

Motivací k druhé části cílů práce, ověření morfologické a genetické variability mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré v ČR a v Polsku byl sporný původ břízy ojcovské a zejména vhodnost zjištění genetických odlišností české a polské populace břízy ojcovské, například pro budoucí podporu vymírající populace na jediné lokalitě v ČR – PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně.

Cíli této práce bylo tedy porovnání morfologické a genetické variability mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza na území ČR (přesněji Českého masivu) a porovnání morfologické a genetické variability populací břízy ojcovské a břízy bělokoré v ČR a v Polsku. Morfologickou variabilitou diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza se v minulosti zabývali například Gardiner (1972; 1981), Gill a Davy (1983) nebo Howland (1995), studií genetických příbuzností v rámci rodu bříza pak například Järvinen et al. (2004), Grimm a Renner (2013), Wang et al. (2016) nebo Schenk et al. (2008). Ačkoliv mnohé studie zabývající se taxonomií rodu bříza jsou zaměřeny na různý okruh těchto taxonů, neurčitost rozlišení zejména nižších taxonomických jednotek je společná pro většinu těchto experimentů.

5.1 Morfologická variabilita mezi diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza na území ČR

Porovnání hodnot parametrů měřených na listech jedinců mezi diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza ukázalo statisticky významné výsledky v 6 z 9 měřených parametrů. Tyto výsledky tak ukazují na možnou rozlišitelnost di- a tetraploidních jedinců na základě listové morfometrie, nicméně samotné statistické testování jednotlivých parametrů neurčuje žádné klasifikační kritérium. V minulosti byly podobné analýzy provedeny např. ve studii Ešnerové et al. (2012), která ve své práci taktéž navrhla klasifikační kritérium pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza pro území Krkonoš (viz dále). Autor této práce již provedl podobnou analýzu pro oblast Šumavy ve své diplomové práci (Linda, 2016).

Odlišný tvar listů diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza, který je popisován v odborné literatuře (např. Kříž, 2003) je však možné dokládat i testováním jednotlivých parametrů, například délka čepele je u tetraploidní břízy pýřité uváděna až do 7–8 cm, zatímco u břízy bělokoré do max. 6 cm. Statistické testování v tomto případě odhalilo statisticky významné výsledky, avšak reálně měřitelné rozdíly jsou relativně malé a rozsahy měření tohoto parametru pro obě skupiny se značně překrývají. Dalším příkladem může být parametr vzdálenost nejširšího místa čepele od báze čepele, který podporuje popisované rozdíly v odborné literatuře, kdy v případě břízy bělokoré je uvedeno „čepel listu trojúhelníkovitě vejčitá“ a „většinou v dolní třetině nejširší“, zatímco listová čepel břízy pýřité je popisována jako „eliptická až vejčitá“. Zmíněné popisy však mohou být subjektivní a nemohou být plně postihnuty měřením jednoho listového parametru.

Spolehlivé rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců tak umožňuje použití více parametrů zároveň v klasifikační funkci. V této práci byla vytvořena klasifikační (diskriminační) funkce pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza na základě dvou, respektive 4 parametrů. Přesnost této funkce dosahovala 91,93 %, respektive 93,15 %. V porovnání s klasifikačními funkcemi pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza zkonstruovanými v minulosti vykazuje funkce vytvořená v této práci nejvyšší spolehlivost při použití na vzorcích z České republiky.

Klasifikační funkce navržená Ešnerovou et al. (2012) vykazovala přesnost rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců na použitých datech 83,83 %, ačkoliv v původní práci je uváděna spolehlivost 98,7 % na vzorcích z oblasti Krkonoš. Podobnou spoleh-

livost ukázaly funkce Atkinsona a Codlinga (1986), a to 88,06 % (původní přesnost 93 %) a funkce navržené v diplomové práci autora této práce (Linda, 2016), která na původních vzorcích z oblasti Šumavy vykazovala spolehlivost 96 %, při použití na vzorky z celé oblasti ČR pak 86,07 %. Nižší hodnoty spolehlivosti při jejím ověření na vzorcích z celé oblasti ČR (přesněji Českého masivu) je očekávané, jelikož použití matematických a statistických modelů na jiná než původní („trénovací“) data zpravidla vykazuje nižší přesnost. Lze tedy konstatovat, že pro obecné rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza z území ČR je nevhodnější funkce vytvořená v této práci, pro specifické oblasti (Šumava, Krkonoše, viz výše) je pak vhodné použít specializované funkce (dle Ešnerové, 2012 a Lindy, 2016). Zde je taktéž vhodné zmínit velkou robustnost funkce navržené Atkinsonem a Codlingem (1986), která vykazovala nejvyšší přesnost z porovnávaných funkcí jiných autorů, přestože byla původně zkonstruována na základě měření vzorků z části Britských ostrovů. Tato funkce vykazovala velmi dobrou přesnost i v porovnání provedeném v diplomové práci autora (Linda, 2016), kdy celková přesnost byla pouze o jeden procentní bod nižší v porovnání s funkcí navržené v diplomové práci, přičemž pro některé lokality vykazovala dokonce vyšší přesnost než autorem navržená funkce. Listové parametry používané v klasifikačních funkcích jsou ve všech případech podobné a jednoduše měřitelné běžným kancelářským pravítkem / úhломěrem.

Odlišitelnost diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza na základě listových parametrů potvrzují i analýza hlavních komponent (PCA), v projekci první a druhé osy PCA diagramu diploidní a tetraploidní jedinci vytváří vzájemně posunutá mračna bodů. Výsledky však dále značí relativně vysokou morfologickou variabilitu zejména v rámci tetraploidních taxonů; pouze drobné odlišnosti byly pozorovány v případě některých mikrotaxonů (např. drobný posun *B. petraea* vůči *B. carpatica* na Obr. 12). K podobnému výsledku v minulosti došli například Gardiner a Jeffers (1962), Gardiner (1972; 1981), Gill a Davy (1983), Howland et al. (1995) či z území ČR Ešnerová et al. (2012) a výsledky v tomto ohledu opět ukazují značnou neurčitost.

Dále provedená kanonická diskriminační analýza (CDA) potvrzuje předchozí výsledky přičemž ještě více ukazuje na morfologické odlišnosti diploidních a tetraploidních jedinců. Tato analýza navíc ukazuje triploidní jedince jako „přechodové“ – objevují se na pomezí mračna bodů diploidních a tetraploidních jedinců v CDA diagramu. Na bodovém diagramu (Obr. 13) se taktéž více ukazují morfologické odlišnosti břízy ojcovské od ostatních diploidních taxonů, což je vzhledem k výběru vzorkovaných jedinců právě dle jejich odlišné morfologie očekávatelné. Zajímavé je

zde umístění holotypu *B. carpatica*, která se objevuje blíž diploidním taxonům, narozdíl od předchozí PCA analýzy. Příčinou může být náhodný efekt jednoho nebo více parametrů, avšak tento fakt může taktéž odkazovat na původ holotypu *B. carpatica* v Karpatech, kde tento vzorek mohl být morfologicky odlišný kvůli vysokohorským podmínkám. Za produkt horského klimatu označili *B. carpatica* například Wimmer (1839) nebo Willkomm (1887). Jedinečnost *B. carpatica* ve své práci však popřel Morgenthaler (1915) a nalezené jedince odpovídající předchozímu popisu označil jako *B. pubescens*. Podrobnější informace o dalším vývoji taxonomického zařazení *B. carpatica* jsou uvedeny v úvodu této práce.

5.2 Morfologická variabilita populací břízy bělokoré a břízy ojcovské z území ČR a Polska

Podobně jako v předchozím případě, pro vzorky břízy bělokoré a břízy ojcovské bylo provedeno porovnání hodnot jednotlivých parametrů měřených na listech vzorkovaných jedinců. V tomto případě mohlo být použito více parametrů než v předchozím obecném porovnání diploidních a tetraploidních taxonů. Některé parametry nebylo možné při srovnání diploidních a tetraploidních vzorků měřit např. z důvodu absence 4. listové žilky, která je pro řadu měření potřebná. Do porovnání byli zařazeni pouze jedinci, kteří vykazovali alespoň 80 % znaků uváděných pro oba taxony v relevantní literatuře (Pawłowska, 1980; Kříž, 2003; Rutkowski, 2018; Vašut, 2019). Celkem tak bylo testováno 16 listových parametrů, přičemž u 13 z nich byly zjištěny statisticky významné rozdíly. Největší rozdíl byl pozorován právě u nasazení již výše zmíněné 4. listové žilky, jejíž vzdálenost od špičky listu byla u břízy bělokoré o 62 % větší v porovnání se vzorky břízy ojcovské. Významně vyšší hodnoty pro vzorky břízy bělokoré vykazovaly například i parametry šířka nebo délka listu. Testování jednotlivých parametrů, jak již bylo zmíněno výše, neposkytuje jasný nástroj pro oddělení zvolených taxonů, avšak výsledky reflektují popis obou taxonů v relevantní odborné literatuře (viz výše). Například Hejný a Slavík (2003) uvádějí u popisu břízy ojcovské „čepel listů kosníkovitá, 1,5–3 cm dlouhá a 1–2 cm široká“, v porovnání s břízou bělokorou (čepel 3–6 cm dlouhá, 2,5–5 cm široká) jsou tedy listy celkově menší s méně páry postranních žilek (4–5 párů vs 6–7 párů u břízy bělokoré). Dalším příkladem může být například délka řapíku, kdy Hejný a Slavík (2003) uvádí v případě břízy ojcovské „řapík červenavý, 1–1,5 cm dlouhý“ zatímco u břízy bělokoré „řapík zděli 1/2 čepele“, tzn. cca 1,5 až 3 cm.

Kromě odlišného tvaru a velikosti listů je v případě odlišení břízy ojcovské brát v potaz především celkový habitus stromu, tvar a charakter větví, a přítomnost listů na brachyblastech. Ze zkušeností autorského kolektivu publikací Kuneše et al. (2019) a Lindy et al. (2020) taktéž vyplývá, že mnoho jedinců z lokality výskytu břízy ojcovské vykazuje mnoho přechodových znaků, či se dokonce znaky výrazně liší v rámci jednoho jedince.

Následná analýza hlavních komponent (PCA) ukázala na obecné rozdíly v morfologii listů břízy bělokoré a břízy ojcovské, ale taktéž na neurčitost některých vzorků. Drobná rozdílnost českých a polských vzorků břízy ojcovské může být dána populační variabilitou, respektive separací daných populací. Vzdálenost českých vzorků břízy bělokoré je subjektivně menší od polských vzorků břízy ojcovské v porovnání s českými vzorky břízy ojcovské, což samozřejmě může být dáno náhodnými efekty prostředí a nemusí nutně pramenit z příbuzenských vztahů mezi zkoumanými taxony. Vzhledem k popisovanému původu břízy ojcovské je však obecně odhalení pouze drobných genetických vzdáleností *B. pendula* a *B. ×oycoviensis* očekávatelné.

Výsledky analýzy hlavních komponent dále potvrdila kanonická diskriminační analýza (CDA), kde se ještě více ukázaly popisované rozdíly. Vzorek *B. szaferi* z krakovského herbáře (číslo KRAM 303846, holotyp *B. szaferi*) se ukázal jako zcela odlišný od ostatních odebraných vzorků. Odlišnou morfologii *B. szaferi* popisují i autoři popisu tohoto taxonu. Vzorky „vypěstované *B. szaferi*“ vykazovaly menší odlišnost v porovnání s holotypem *B. szaferi*, což bylo vzhledem k výběru těchto vzorků na základě morfologických odlišností očekávatelné. Vzorky „vypěstované *B. szaferi*“ byly vypěstovány z osiva odebraného v lokalitě PP Lokalita břízy ojcovské u Volyně a vybrány mezi ostatními jedinci, které se podařilo vypěstovat z odebraného osiva břízy ojcovské (3 jedinci vykazovali alespoň některé znaky *B. szaferi*, 2 z nich bylo možné zařadit do analýz z důvodu přítomnosti dostatečného množství listového materiálu). Různé „typy“ břízy ojcovské pozorovala i Szaferová (1967) ve svém pokusu při křížení *B. ×oycoviensis* × *B. ×oycoviensis*, a to typ „*pendula*“, typ „*nova*“, později popsanou jako *B. szaferi* (Staszkiewicz, 1986), a typ „*oycoviensis*“. Výsledky drobného dílčího experimentu tak ukazují, že potomci břízy ojcovské mohou vykazovat velmi vysokou morfologickou variabilitu.

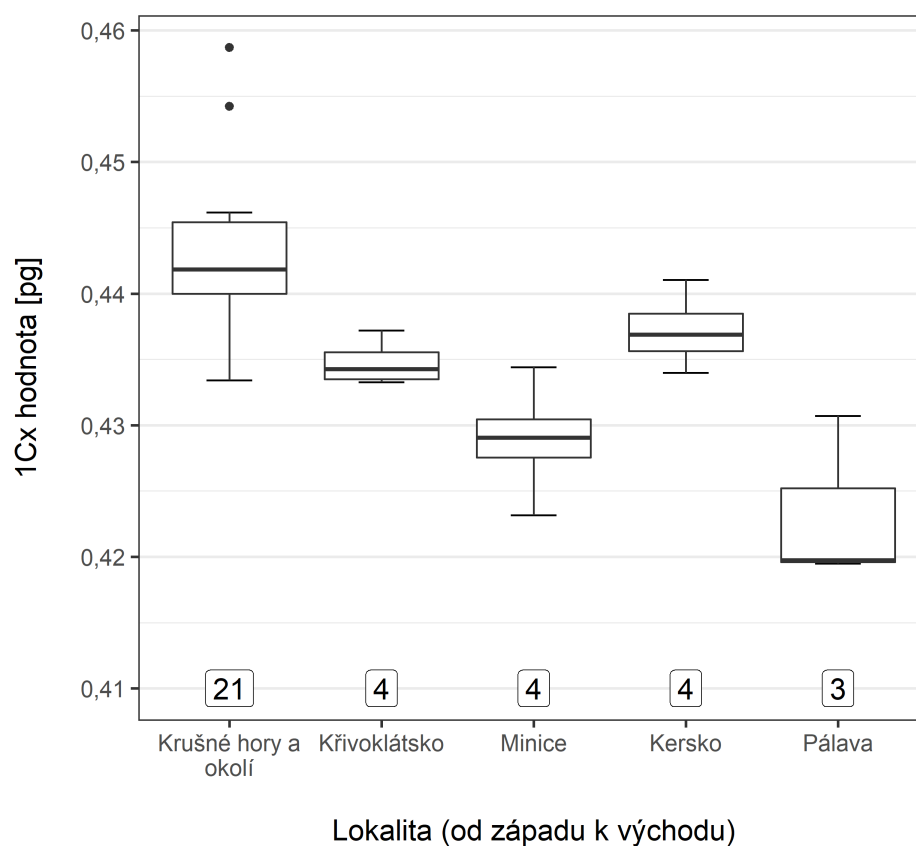
5.3 Analýza velikosti genomu

Analýza velikosti genomu populací diploidních a tetraploidních bříz z oblasti Českého masivu ukázala na statisticky významnou odlišnost *B. nana* od ostatních zkoumaných diploidních taxonů, v rámci tetraploidních jedinců byly pozorovány statisticky významně vyšší hodnoty velikosti genomu v případě *B. carpatica* v porovnání s *B. pubescens*. Odlišná velikost genomu *B. nana* může být částečně vysvětlena příslušností k jiné sekci v rámci rodu bříza v porovnání s ostatními diploidními taxony z území Českého masivu. Podobné vysvětlení se částečně nabízí i v případě *B. carpatica*, kdy někteří autoři, např. Pawłowska (2014), uvádějí *B. carpatica* jako taxon vzniklý hybridizací *B. pubescens* a ostatních tetraploidních taxonů (zde konkrétně *B. tortuosa*). Přestože byly ve zmíněných případech pozorovány statisticky významné rozdíly, poměrový rozdíl 1Cx hodnoty mezi *B. pendula* a *B. nana* činí cca 7,2 %, což je méně než je běžně v říši popisovaná geografická variabilita jiných druhů (např. Greilhuber a Speta (1985); Realini et al. (2016)). V případě statisticky významné odlišnosti *B. carpatica* a *B. pubescens* se jedná o rozdíl na úrovni pouze 1,5 %. Vzhledem k faktu, že bříza pýřitá, bříza karpatská a bříza skalní představují zástupce tetraploidních taxonů rodu bříza v ČR vyskytující se v různých podmínkách, jejich rozdílná velikost genomu může být taktéž dána selekcí genů v průběhu adaptace na tyto podmínky. Podobný jev je pozorován například v případě borovice (Wakamiya et al., 1993).

Mezi všemi odebranými vzorky byli identifikováni 4 triploidní jedinci, tj. cca 1 % ze všech odebraných vzorků, což je výrazně méně než je popisováno například z Islandu, kde triploidní jedinci tvořili cca 10 % náhodně odebraných vzorků (Anamthawat-Jónsson a Thórsson, 2003; Thórsson et al., 2007). Nízký poměr triploidů v tuzemských podmínkách je pravděpodobně dán izolovaností populací *B. nana*, která tvořila většinu kříženců v předchozích studiích. Lze však konstatovat, že hybridizace mezi diploidními a tetraploidními jedinci je možná, ačkoliv vznik triploidních jedinců hybridizací je v našich podmínkách velmi vzácný.

V případě analýzy velikosti genomu populací břízy bělokoré a břízy ojcovské byla identifikována statisticky významná odlišnost pouze v případě *B. pendula* z území ČR, avšak např. v porovnání se vzorky *B. pendula* z území Polska vykazovala 1Cx hodnoty pouze o přibližně 1 % vyšší. Vzhledem k vnitrodruhové varianci velikosti genomu u jiných druhů z říše rostlin lze předpokládat, že tento rozdíl je dán populační/geografickou variabilitou.

Tento závěr podporuje i provedená pilotní analýza velikosti genomu vzorků *B. pendula* odebraných v různých částech České republiky, viz Obr. 24.



Obr. 24: Porovnání 1Cx hodnot [pg] mezi vybranými vzorky *B. pendula* na území ČR. Čísla v rámečku u osy X značí počet analyzovaných jedinců. Převzato z publikace Lindy et al. (2020) a upraveno.

5.4 Analýza genetických příbuzností mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza na území Českého masivu

Základní analýza počtu alel a proporce sdílených alel mezi diploidními a tetraploidními vzorky s největší pravděpodobností značí allopolyploidní původ tetraploidních jedinců. K podobným výsledkům v minulosti došli např. Anamthawat-Jónsson et al. (2010) či Wang et al. (2020).

Molekulární analýzy provedené v této studii ukázaly na nerozeznatelnost taxonů z okruhu *B. pubescens*, tj. *B. pubescens*, *B. carpatica* a *B. petraea*. Bříza ojcovská se taktéž výrazně neodlišila od skupiny břízy bělokoré; touto problematikou se dále zabývá zvláštní kapitola. Jediným výrazně se odlišujícím taxonem je pouze *B. nana*, což bylo vzhledem k jejímu taxonomickému zařazení do odlišné sekce v porovnání s ostatními analyzovanými diploidy očekávané. Po vyřazení *B. nana* z analýzy nebyly v rámci vzorků diploidních taxonů identifikovány žádné geneticky odlišné skupiny (Obr. 20).

Historie zařazení břízy karpatské do taxonomického systému (viz kapitola 1.3.1.1) společně s výsledky této studie ukazují na nízkou taxonomickou hodnotu *B. carpatica*. K podobnému závěru došli např. i autoři velkého taxonomického přehledu bříz (Ashburner a McAllister, 2013), kteří popisují že zástupci „břízy karpatské“ z oblasti Karpat se neliší od *B. pubescens* s.s. Podobná situace je s největší pravděpodobností i v případě *B. petraea*. Tento taxon byl v minulosti studován Skokanovou (2003) na území Slovenska (v oblasti Jurského jezera), která došla k závěru, že místní vzorky popsané T. Sýkorou (1983) jako *B. petraea* jsou typickými příklady *B. pubescens* s.s.

Taxonomická pozice *B. carpatica* byla v nedávné době změněna i v tuzemské literatuře (Vašut, 2019). Dosud byla bříza karpatská uváděna jako samostatný druh rodu bříza (např. Kříž, 2003, nyní je nově zařazena jako poddruh břízy pýřité (*B. pubescens* subsp. *carpatica*, což je v souladu se zahraniční odbornou literaturou (např. Fischer et al., 2005 nebo Jäger, 2017). Výsledky této studie tuto změnu podporují, nicméně z důvodu absolutní nemožnosti identifikace žádných odlišných genetických skupin v rámci tetraploidních vzorků lze namítnout, že taxonomická pozice břízy karpatské může být ještě nižší než na úrovni poddruhu (Steenis, 1957).

Podobný výsledek jako v případě vzorků z okruhu *B. pubescens* byl pozorován i v případě *B. atrata*, která se i přes svá morfologická specifika geneticky ne-

odlišila od břízy bělokoré, nicméně pro formulování jasných závěrů nebylo v této studii použito dostatečné množství vzorků. Ke stejnému závěru však v minulosti došel Hejtmánek (1956).

Relativně vysoká genetická variabilita mezi diploidními, ale především tetraploidními jedinci může být částečně vysvětlena přetrváním bříz na území střední Evropy i během doby ledové (Kuneš et al., 2008; Petr a Novák, 2014; Chytrý et al., 2017) či poměrně snadným rozptylem semen bříz ve vysokém počtu i na relativně velké vzdálenosti; z těchto faktů lze usuzovat, že speciace na základě geografického odloučení není příliš pravděpodobná. Na druhou stranu, extrémní podmínky, ve kterých se některé taxony rodu bříza vyskytují, mohou mít v delším časovém kontextu výrazný vliv na morfologii těchto jedinců s možností vytváření specifických forem či variet.

5.5 Analýza genetických příbuzností mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré na území ČR a Polska

Bříza ojcovská je považována za křížence břízy bělokoré vyhynulého taxonu *B. szaferi*, její taxonomická pozice však není zcela ujasněna. Během sběru dat pro tuto a v minulosti publikovanou práci (Linda et al., 2020) byly nalezeny vzorky odpovídající popisu břízy ojcovské na lokalitách Volyně u Výsluní (ČR), Dolina Kobylańska (PL) a Skielek (PL). Na lokalitě Hamernia nebyly nalezeni žádní jedinci břízy ojcovské, ačkoliv byly z této lokality v minulosti popisovány (Jentys-Szaferowa, 1928); tito jedinci avšak v průběhu 2. poloviny 20. století pravděpodobně úplně vymizeli (Sołtys-Lelek a Barabasz-Krasny, 2009).

Na všech zmíněných lokalitách byli nalezeni jedinci vykazující znaky břízy ojcovské, břízy bělokoré, v mnoha případech však i jedinci vykazující přechodné znaky obou zmíněných taxonů. Během sběru vzorků nebyl nalezen žádný zástupce *B. szaferi* ve volné přírodě, avšak 3 jedinci částečně odpovídající popisu *B. szaferi* (Staszkiwicz, 1986) byli získáni vypěstováním z osiva břízy ojcovské odebraného na lokalitě Volyně u Výsluní. V minulosti došla k podobnému výsledku i Jentys-Szaferowa (1967), která popsala tři „typy“ potomstva vzniklého křížením *B. ×oycoviensis* × *B. ×oycoviensis* – typ „pendula“, typ „oycoviensis“ a typ „nova“, později popsány jako *B. szaferi* (Staszkiwicz, 1986).

Výše uvedená fakta mohou naznačovat vznik břízy ojcovské křížením *B. pendula* × *B. szaferi*, avšak samotné výsledky experimentu provedeného Jentys-Szaferowou (1967) hybridogenní původ břízy ojcovské přímo nedokazují. V této studii nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v genetice odebraných vzorků *B. pendula* a vzorkem *B. szaferi* (Obr. 22, 23). *B. × oycoviensis* tak mohla vzniknout křížením *B. pendula* sensu stricto s geneticky vzdálenou *B. pendula* či *B. pendula* s určitou genetickou anomálií. Tato teorie by taktéž vysvětlovala nálezy břízy ojcovské i v ostatních zemích.

Molekulární analýzy ukázaly velmi nízkou vnitroskupinovou variabilitu, tzn. veškeré odebrané vzorky kromě outlierových taxonů (*B. nana*, *B. humilis*) tvoří jednu homogenní genetickou skupinu (a to i mezi zájmovými lokalitami). Po odebrání outlierových taxonů je zřetelná pouze minimální variabilita, například vypěstované vzorky připomínající *B. szaferi* se v DAPC diagramu (Obr. 23) objevily na okraji mračna bodů reprezentující ostatní vzorky. Rozdíly mezi skupinami byly navíc statisticky testovány a ukázaly se jako statisticky nevýznamné.

V předchozí kapitole byla popisována drobná odlišnost vzorků břízy bělokoré vzorkované na území ČR z hlediska velikosti genomu; podobná odlišnost byla pozorována i v případě analýzy jedinečných alel, kdy v případě vzorků *B. pendula* z České republiky byla pozorována průměrně 0,5 jedinečné alely na jeden vzorek, což je nejvyšší hodnota u vzorků mimo vzorky outlierových taxonů (*B. nana*, *B. humilis*) a vzorků „vypěstované“ *B. szaferi*. Tento jev může opět naznačovat, že druhým rodičovským druhem břízy ojcovské (kromě *B. pendula* s.s.) může být geneticky „vzdálená“ či „odlišná“ *B. pendula*. Pro stanovení jasných závěrů je však nepochybně nutný další podrobnější výzkum, nicméně závěry této studie ukazují na genetickou homogenitu vzorků břízy bělokoré a břízy ojcovské ze všech studovaných populací. Tento závěr je taktéž ve shodě s nejnovějším taxonomickým přehledem rodu bříza (Ashburner a McAllister, 2013), který označuje břízu ojcovskou za silně plodící břízu bělokorou s charakteristickým habitem. Poslední klíč ke květeně ČR taktéž nově uvádí břízu ojcovskou jako *B. pendula* var. *oycoviensis* (Vašut, 2019).

Závěr

Cílem této práce bylo zhodnocení morfologické a genetické variability diploidních a tetraploidních taxonů rodu bříza a dále porovnání morfologické a genetické variability populací břízy ojcovské a břízy bělokoré v ČR a v Polsku. Prvotní motivací pro tuto studii bylo neujasněné taxonomické zařazení břízy karpatské, což mělo přímé důsledky pro ochranu přírody, ale i pro lesnickou praxi. Pro zjištění genetických a morfologických odlišností diploidních a tetraploidních taxonů rodu bříza na území ČR byly odebrány vzorky z celé oblasti Českého masivu, specificky pak z lokalit, odkud různí autoři v minulosti popisovali různé mikrotaxony rodu bříza. Z morfologického hlediska byly hodnoceny listové parametry, genetická variabilita byla měřena pomocí velikosti genomu a analýzou mikrosatelitů.

Analýzy listové morfologie ukázaly na možnost rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza. Následná konstrukce klasifikační funkce tuto možnost potvrdila; pozorovaná přesnost klasifikační funkce byla cca 92 %. Následné analýzy mikrosatelitů však neodlišily žádné skupiny taxonů vyjma břízy trpasličí. Analýza tedy neodlišila žádnou skupinu vzorků tetraploidních jedinců z okruhu *B. pubescens* (*B. pubescens*, *B. carpatica*, *B. petraea*) ani žádnou skupinu diploidních vzorků z okruhu *B. pendula*.

V nedávno zveřejněné tuzemské literatuře (Vašut, 2019) je bříza karpatská nově uváděna jako poddruh břízy pýřité a výsledky této studie uvedenou úpravu v pohledu na postavení břízy karpatské v taxonomickém systému podporují, ačkoliv existuje možnost, že bříza karpatská ve skutečnosti patří na ještě nižší pozici v taxonomickém systému. Podobný závěr lze udělat i v případě břízy skalní. Studované

tetraploidní taxony jsou dle analýzy sdílených alel mezi diploidními a tetraploidními taxony s největší pravděpodobností allopolyploidního původu.

Nejasnosti okolo taxonomického zařazení některých taxonů zůstávají i mezi diploidními jedinci. S výjimkou *B. nana* zde nebyly na základě analýzy mikrosatelitů odlišeny žádné mikrotaxony z okruhu *B. pendula* (např. *B. atrata*, či vzorky s přechodovými znaky).

Nejvýznamnějším taxonem z okruhu *B. pendula* s nejistým taxonomickým zařazením je bříza ojcovská, jejíž genetická a morfologická variabilita vzhledem k populacím břízy bělokoré na území ČR a Polska byla studována v druhé části této studie. Výsledky analýzy genetické variability mezi populacemi břízy bělokoré a břízy ojcovské na území ČR a Polska ukazují na genetickou neodlišitelnost obou taxonů. Výsledky tak spíše korespondují s aktuální tuzemskou odbornou literaturou (Vašut, 2019), kde je bříza ojcovská zařazována jako varieta břízy bělokoré *B. pendula* var. *oycoviensis*, ačkoliv například aktuální klíč ke květeně Polska (Rutkowski, 2018) uvádí břízu ojcovskou jako druh. Analýza listové morfologie ukázala významné rozdíly mezi listovými parametry obou taxonů, což je vzhledem k determinaci břízy ojcovské zejména na základě její morfologie očekávané.

Bříza ojcovská je však stále uznávanou dřevinou nehledě na její taxonomickou hodnotu. V Polsku je bříza ojcovská chráněná zákonem (Poz. 1409 Rozporządzenie ministra środowiska z dnia z dnia 9. października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin), v České republice je zařazena na Červený seznam cévnatých rostlin, avšak zákonem chráněná není, na druhou stranu však není zařazena v Červené knize stromů ani na Červeném seznamu břízovitých (Shaw et al., 2014). Přestože ochrana přírody rozeznává jako základní jednotku členění živých organismů druh, ochrana populací a biotopů břízy ojcovské není bezpředmětná. I přes nízkou taxonomickou úroveň je bříza ojcovská (což však platí pro veškeré živé organismy) „zvláštním“ a zajímavým taxonem a ochrana populací břízy ojcovské by tak měla být zachována.

Reference

- Ahdesmäki, M., Strimmer, K., 2010. Feature selection in omics prediction problems using cat scores and false nondiscovery rate control. *Ann. Appl. Stat.* 4, 503–519. <https://doi.org/10.1214/09-AOAS277>.
- Anamthawat-Jónsson, K., Thórsson, Æ.T., 2003. Natural hybridisation in birch: triploid hybrids between *Betula nana* and *B. pubescens*. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 75, 99–107. <https://doi.org/10.1023/a:1025063123552>.
- Anamthawat-Jónsson, K., Thórsson, Æ.T., Tensch, E.M., Greilhuber, J., 2010. Icelandic Birch Polyploids – The Case of a Perfect Fit in Genome Size. *J. Bot.* 2010, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2010/347254>.
- Anonymus, 1831. Einige Blumen af das Grab Paul Kitaibel's /Biographische notizen/. *Flora oder Bot. Zeitung welche Recens. Abhandlungen, Aufsätze, Neuigkeiten und Nachrichten, die Bot. Betreff. enthält* 14, 149–159.
- Ashburner, K., McAllister, H.A., 2013. *The Genus Betula: A taxonomic revision of Birches*. Kew Publishing, Richmond, Surrey.
- Atkinson, M.D., 1992. *Betula pendula* Roth. (*B. verrucosa* Ehrh.) and *B. pubescens* Ehrh. *J. Ecol.* 80, 837. <https://doi.org/10.2307/2260870>.
- Atkinson, M.D., Codling, A.N., 1986. A reliable method for distinguishing between *Betula pendula* and *B. pubescens*. *Watsonia* 16, 75–87.
- Bajer, V., Vašut, R., 2010. Vytvoření komplexního monitorovacího systému přírodního prostředí Moravskoslezského kraje – Monitoring vybraných druhů flóry v CHKO Beskydy – část B (*Ribes petraeum*, *R. alpinum* a *Betula obscura*). Závěrečná zpráva.
- Baláš, M., Kuneš, I., Gallo, J., Rašáková, N., 2016. Review on *Betula oycoviensis* and foliar morphometry of the species in Volyně, Czech Republic. *Dendrobiology* 76, 117–125. <https://doi.org/10.12657/denbio.076.011>.

- Balcar, V., 2001. Some experience with European birch (*Betula pendula*) and Carpathian birch (*Betula carpatica*) planted on the ridge part of Jizerské hory Mts. J. For. Sci. 47, 150–155.
- Balcar, V., Slodičák, M., Kacálek, D., Navrátil, P., 2007. Metodika postupů přeměn porostů náhradních dřevin v imisních oblastech – Lesnický průvodce. VÚLHM, Strnady.
- Bäucker, B., Eisenhauer, D.R., 2001. Damage to common birch (*Betula pendula* Roth.) in higher altitudes of the Ore Mts. (Erzgebirge). J. For. Sci. 47, 156–163.
- Besser, W.S.J.G., 1809. Primitiae florae Galiciae Austriacae utriusque: encheiridion ad concinatum, Pars 2. Sumtibus Ant. Doll, Wien.
- Blansché, A., 2020. *fdm2id: Data Mining and R Programming for Beginners*.
- Brandtberg, P.O., Bengtsson, J., Lundkvist, H., 2004. Distributions of the capacity to take up nutrients by *Betula* spp. and *Picea abies* in mixed stands. For. Ecol. Manage. 198, 193–208. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.04.012>.
- Brandtberg, P.O., Lundkvist, H., Bengtsson, J., 2000. Changes in forest-floor chemistry caused by a birch admixture in Norway spruce stands. For. Ecol. Manage. 130, 253–264. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00183-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00183-8).
- Brochmann, C., Brysting, A.K., Alsos, I.G., Borgen, L., Grundt, H.H., Scheen, A.C., Elven, R., 2004. Polyploidy in arctic plants. Biol. J. Linn. Soc. 82, 521–536. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2004.00337.x>.
- Brookes, C., Bright, J.A., Harbison, S., Buckleton, J., 2012. Characterising stutter in forensic STR multiplexes. Forensic Sci. Int. Genet. 6, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.02.001>.
- Bruvo, R., Michiels, N.K., D'Souza, T.G., Schulenburg, H., 2004. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. Mol. Ecol. 13, 2101–2106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02209.x>.
- Buriánek, V., Novotný, P., Frýdl, J., 2014. Metodická příručka k určování domácích druhů bříz. VÚLHM, Strnady.
- Clark, L.V., Jasieniuk, M., 2011. *polysat: an R package for polyploid microsatellite analysis*. Mol. Ecol. Resour. 11, 562–566. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.02985.x>.

- Crane, P.R., Pleasants, L.J., 2006. Taxonomy and the future of plant diversity science, in: Leadlay, E., Jury, S. (Eds.), *Taxon. plant Conserv.* Cambridge University Press, Cambridge, New York, s. 3–17.
- Davis, P.H., Heywood, V.H., 1963. *Principles of Angiosperm Taxonomy.* Van Nostrand, Princeton, New Jersey, USA.
- Domin, K., 1927. *Betula atrata* Domin, nová bříza z Českomoravské vysočiny. *Rozpr. České Akad. věd a umění* 36, 1–10.
- Earl, D.A., VonHoldt, B.M., 2012. STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4, 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>.
- Eeles, R.A., Warren, W., Stamps, A., 1992. The PCR revolution. *Eur. J. Cancer* 28, 289–293. [https://doi.org/10.1016/0959-8049\(92\)90436-6](https://doi.org/10.1016/0959-8049(92)90436-6).
- Elkington, T.T., 1968. Introgressive hybridization between *Betula nana* L. and *B. pubescens* Ehrh. in north-west Iceland. *New Phytol.* 67, 109–118. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1968.tb05459.x>.
- Ellegren, H., 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat. Rev. Genet.* 5, 435–445. <https://doi.org/10.1038/nrg1348>.
- Ešnerová, J., Karlík, P., Zahradník, D., Koňasová, T., Stejskal, J., Baláš, M., Vítámvás, J., Rašáková, N., Stacho, J., Kuthan, J., Lukášová, M., Kuneš, I., 2012. Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. *Zprávy Lesn. Výzkumu* 57, 112–125.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K., 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567–87.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K., 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol. Ecol. Notes* 7, 574–578. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x>.

- Felton, A., Nilsson, U., Sonesson, J., Felton, A.M., Roberge, J.M., Ranius, T., Ahlström, M., Bergh, J., Björkman, C., Boberg, J., Drössler, L., Fahlvik, N., Gong, P., Holmström, E., Keskitalo, E.C.H., Klapwijk, M.J., Laudon, H., Lundmark, T., Niklasson, M., Nordin, A., Pettersson, M., Stenlid, J., Sténs, A., Wallertz, K., 2016. Replacing monocultures with mixed-species stands: Ecosystem service implications of two production forest alternatives in Sweden. *Ambio* 45, 124–139. <https://doi.org/10.1007/s13280-015-0749-2>.
- Ferkl, J., 2006. Lesy v Krušných horách, in: Šišák, L., Stýblo, J. (Eds.), *Ekon. aspekty rekonstrukce náhradních porostů v Krušných horách*. ČZU, Fakulta lesnická a environmentální, Praha, s. 4–6.
- Fischer, M., Oswald, K., Adler, W. (Eds.), 2005. *Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol*. Oberösterreichisches Landesmuseum Linz, Linz, Rakousko, 2. vydání.
- Franiel, I., 2009. Problemy taksonomiczne *Betula obscura* (Betulaceae) – przegląd literatury. *Fragm. Florist. Geobot. Pol.* 16, 27–32.
- Furrow, J.J., 1990. The genera of *Betulaceae* in the southeastern United States. *J. Arnold Arboretum*. 71, 1–67. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.24925>.
- Gardiner, A., 1972. A review of the sub-species *carpatica* and *tortuosa* within the species *Betula pubescens* Ehrh. *Trans. Bot. Soc. Edinburgh* 41, 451–459. <https://doi.org/10.1080/03746607208685245>.
- Gardiner, A., 1981. *Betula pubescens* – the affinities of types in the Scottish highlands with those of continental Europe: a study of leaf morphology or the application of morphometrics., in: Last, F., Gardiner, A. (Eds.), *For. Woodl. Ecol. an Acc. Res. being done ITE*. NERC/Institute of Terrestrial Ecology, Cambridge, s. 89–93.
- Gardiner, A., 1984. Taxonomy of infraspecific variation in *Betula pubescens* Ehrh., with particular reference to the Scottish Highlands. *Proc. R. Soc. Edinburgh. Sect. B. Biol. Sci.* 85, 13–26. <https://doi.org/10.1017/S0269727000003857>.
- Gardiner, A., Jeffers, J.N.R., 1962. Analysis of the collective species *Betula alba* L. on the basis of leaf measurements. *Silvae Genet.* 11, 125–176.
- Gill, J.A., Davy, A.J., 1983. Variation and polyploidy within lowland populations of the *Betula pendula*/*B. pubescens* complex. *New Phytol.* 94, 433–451.

- Giraudoux, P., 2018. *pgirmess: Spatial Analysis and Data Mining for Field Ecologists*.
- Goliašová, K., Michalková, E. (Eds.), 2006. *Flóra Slovenska V/3*. VEDA, vydavateľstvo SAV, Bratislava.
- Goudet, J., Raymond, M., de Meeüs, T., Rousset, F., 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics* 144, 1933–40.
- Greilhuber, J., Doležel, J., Lysák, M.A., Bennett, M.D., 2005. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. *Ann. Bot.* 95, 255–60. <https://doi.org/10.1093/aob/mci019>.
- Greilhuber, J., Speta, F., 1985. Geographical Variation of Genome Size at Low Taxonomic Levels in the *Scilla bifolia* Alliance (*Hyacinthaceae*). *Flora* 176, 431–438. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30139-1](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30139-1).
- Grimm, G.W., Renner, S.S., 2013. Harvesting *Betulaceae* sequences from GenBank to generate a new chronogram for the family. *Bot. J. Linn. Soc.* 172, 465–477. <https://doi.org/10.1111/boj.12065>.
- Grissino-Mayer, H.D., 1993. An updated list of species used in tree-ring research. *Tree-ring Bull.* 53, 17–43.
- Hejtmánek, J., 1956. K systematickému hodnocení *Betula atrata* Domin. *Preslia* 28, 245–249.
- Heynert, H., 1962. Beiträge zur geobotanischen Erforschung der hercynisch-sudetischen Geirge. *Drudea* 2, 37–56.
- Howland, D.E., Oliver, R.P., Davy, A.J., 1995. Morphological and molecular variation in natural populations of *Betula*. *New Phytol.* 130, 117–124.
- Hubisz, M.J., Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K., 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 9, 1322–32. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x>.
- Chen, Z.D., Manchester, S.R., Sun, H.Y., 1999. Phylogeny and Evolution of the *Betulaceae* as Inferred from DNA Sequences, Morphology, and Paleobotany. *Am. J. Bot.* 86, 1168. <https://doi.org/10.2307/2656981>.
- Chen, Z.D., Zhang, Z.Y., 1991. A Study on Foliar Epidermis in *Betulaceae*. *Acta Phytotaxon. Sin.* 29, 156–163.

- Christensen, K.I., 1983. De Skandinaviske Birke. Scand. Birches 6, 22–36.
- Chung, J., Lee, J.H., Arumuganathan, K., Graef, G.L., Specht, J.E., 1998. Relationships between nuclear DNA content and seed and leaf size in soybean. Theor. Appl. Genet. 96, 1064–1068. <https://doi.org/10.1007/s001220050840>.
- Chytrý, M., Danihelka, J., Pyšek, P., 2017. Flora and vegetation of the Czech Republic. Springer, Cham (Švýcarsko).
- Chytrý, M., Kučera, T., Kočí, M., Grulich, V., Lustyk, P. (Eds.) , 2010. Katalog biotopů České republiky. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, 2. vydání.
- Isaac, N.J.B., Mallet, J., Mace, G.M., 2004. Taxonomic inflation: its influence on macroecology and conservation. Trends Ecol. Evol. 19, 464–469. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.06.004>.
- Jadwiszczak, K.A., Banaszek, A., Jabłońska, E., Sozinov, O.V., 2011. Could *Betula humilis* have survived the last glaciation at a current margin of its distribution? Testing the hypothesis of a glacial refugium using nuclear microsatellites. Plant Syst. Evol. 297, 147–156. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0503-6>.
- Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., 2007. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics 23, 1801–1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm233>.
- Jäger, E. (Ed.) , 2017. Exkursionsflora von Deutschland. Gefäßpflanzen: Grundband. Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, 21. vydání.
- Järvinen, P., Palmé, A., Orlando Morales, L., Lännenpää, M., Keinanen, M., Sopanen, T., Lascoux, M., 2004. Phylogenetic relationships of *Betula* species (*Betulaceae*) based on nuclear ADH and chloroplast matK sequences. Am. J. Bot. 91, 1834–1845. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1834>.
- Jentys-Szaferowa, J., 1921. Rodzina *Betulaceae*, in: Flora Pol. 2. Polska Akademia Nauk, Kraków, s. 3–17.
- Jentys-Szaferowa, J., 1928. Brzoza ojcowska (*Betula oycoviensis* Bess.). Historia i charakterystyka gatunku. Roczn. Pol. Tow. Dendrol. 2, 69–88.
- Jentys-Szaferowa, J., 1959. Problematyka brzozy czarnej (*Betula obscura* Kotula) w Polsce. Roczn. Sekc. Dendr. Pol. Tow. Bot. 12, 11–66.

- Jentys-Szaferowa, J., 1967. Badania systematyczno-doświadczalne nad *Betula oycoviensis* Besser. Roczn. Sekc. Dendrol. Pol. Tow. Bot. 2, 5–56.
- Jentys-Szaferowa, J., Bialobrzeska, M., Truchanowicz, J., Wieckowska, I., 1974. The second decade of investigations on *Betula oycoviensis* Bess. Fragm. Florist. Geobot. 20, 203–242.
- Johnsson, H., 1945. Interspecific hybridization within the genus *Betula*. Hereditas 31, 163–76. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1945.tb02752.x>.
- Jombart, T., 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. Bioinformatics 24, 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>.
- Jombart, T., Ahmed, I., 2011. adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. Bioinformatics 27, 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>.
- Jombart, T., Devillard, S., Balloux, F., 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genet. 11, 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>.
- Karlsson, P.S., Weih, M., 1996. Relationships between Nitrogen Economy and Performance in the Mountain Birch *Betula pubescens* ssp. *tortuosa*. Ecol. Bull. 45, 71–78.
- Keinänen, M., Julkunen-Tiitto, R., Rousi, M., Tahvanainen, J., 1999. Taxonomic implications of phenolic variation in leaves of birch (*Betula* L.) species. Biochem. Syst. Ecol. 27, 243–254. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(98\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(98)00086-6).
- Kirschner, J., Kirschnerová, L., Štěpánek, J., 2007. Generally accepted plant names based on material from the Czech Republic and published in 1753–1820. Preslia 79, 323–369.
- Kříž, Z., 1981. K historii *B. oycoviensis* Besser. Sev. přírodou 12, 37–46.
- Kříž, Z., 2003. *Betula* L. – Bříza, in: Hejný, S., Slavík, B. (Eds.), Květena České republiky II. Academia, Praha, s. 36–46.
- Koblížek, J., 2002. *Betula* L. - bříza, in: Kubát, K., Hrouda, L., Chrtek, J., Kaplan, Z., Kirschner, J., Štěpánek, J. (Eds.), Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha, Praha, s. 143–145.

- Komarov, V.P. (Ed.), 1936. Flora of the U.S.S.R. Botanical Institute of the Academy of Sciences of the U.S.S.R., Moskva – Leningrad.
- Koutecký, P., 2015. MorphoTools: a set of R functions for morphometric analysis. *Plant Syst. Evol.* 301, 1115–1121. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1153-2>.
- Kula, E., 2011. Bříza a její význam pro trvalý rozvoj lesa v imisních oblastech. Nakladatelství Lesnická Práce.
- Kulju, K.K.M., Pekkinen, M., Varvio, S., 2004. Twenty-three microsatellite primer pairs for *Betula pendula* (*Betulaceae*). *Mol. Ecol. Notes* 4, 471–473. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00704.x>.
- Kuneš, I., Balcar, V., Zahradník, D., 2007. Influence of a planting hole application of dolomitic limestone powder and basalt grit on the growth of Carpathian birch (*Betula carpatica* W. et K.) and soil chemistry in the air-polluted Jizerské hory Mts. *J. For. Sci.* 53, 505–515.
- Kuneš, I., Linda, R., Fér, T., Karlík, P., Baláš, M., Ešnerová, J., Vítámvás, J., Bílý, J., Urfus, T., 2019. Is *Betula carpatica* genetically distinctive? A morphometric, cytometric and molecular study of birches in the Bohemian Massif with a focus on Carpathian birch. *PLoS One* 14, 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224387>.
- Kuneš, P., Pelánková, B., Chytrý, M., Jankovská, V., Pokorný, P., Petr, L., 2008. Interpretation of the last-glacial vegetation of eastern-central Europe using modern analogues from southern Siberia. *J. Biogeogr.* 35, 2223–2236. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.01974.x>.
- Kupka, I., Dimitrovský, K., 2011. Výsledky testování vybraných dřevin pro lesnické rekultivace na Sokolovsku. *Zprávy Lesn. výzkumu* 56, 52–56.
- Kuznetsova, T., Mandre, M., Klõšeiko, J., Pärn, H., 2010. A comparison of the growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in a reclaimed oil shale post-mining area and in a *Calluna* site in Estonia. *Environ. Monit. Assess.* 166, 257–265. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-0999-1>.
- Lamarck, J.B.P.A.d.M., Poiret, J.L.M., 1810. Encyclopédie méthodique. Botanique. Supplement., Bd. t.1. Agasse, Paris.

- Lambert, J.B., Donnelly, E.W., Heckenbach, E.A., Johnson, C.L., Kozminski, M.A., Wu, Y., Santiago-Blay, J.A., 2013. Molecular classification of the natural exudates of the rosids. *Phytochemistry* 94, 171–183. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.06.013>.
- Lejeune, A.L.S., Courtois, R.J., 1836. *Compendium florae Belgicae. Conjunctis studiis ediderunt A. L. S. Lejeune & R. Courtois, Bd. 3. Leodii, Apud P. J. Collardin.*
- Lettl, A., Hýsek, J., 1994. Soil microflora in an area where spruce (*Picea abies*) was killed by SO₂ emissions and was succeeded by birch (*Betula pendula*) and mountain ash (*Sorbus aucuparia*). *Ecol. Eng.* 3, 27–37. [https://doi.org/10.1016/0925-8574\(94\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0925-8574(94)90009-4).
- Li, J., Shoup, S., Chen, Z., 2005. Phylogenetics of *Betula* (*Betulaceae*) inferred from sequences of nuclear ribosomal DNA. *Rhodora* 107, 69–86. <https://doi.org/10.3119/04-14.1>.
- Linda, R., 2016. Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) ve vybraných oblastech ČR se zaměřením na tetraploidní zástupce. Diplomová práce, ČZU v Praze.
- Linda, R., Kuneš, I., Baláš, M., 2020. Genetic and morphometric variability between populations of *Betula ×oycoviensis* from Poland and Czechia: A revised view of the taxonomic treatment of the Ojców birch. *PLoS One* 15, e0243310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243310>.
- Linda, R., Kuneš, I., Baláš, M., Gallo, J., 2017. Morphological variability between diploid and tetraploid taxa of the genus *Betula* L. in the Czech Republic. *J. For. Sci.* 63, 531–537. <https://doi.org/10.17221/105/2017-JFS>.
- Linné, C., 1735. *Caroli Linnaei, Sveci, Doctoris Medicinae systema naturae, sive, Regna tria naturae systematice proposita per classes, ordines, genera & species. Apud Theodorum Haak: Ex Typographia Joannis Wilhelmi de Groot, Lugduni Batavorum [Leiden, Nizozemsko].*
- Linné, C., Salvius, L., 1753. *Caroli Linnaei Species plantarum: exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Impensis Laurentii Salvii, Holmiae [Stockholm, Švédsko].*
- Mable, B.K., 2003. Breaking down taxonomic barriers in polyploidy research. *Trends Plant Sci.* 8, 582–590. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.10.006>.

- Martiník, A., 2012. Bříza – „mocná“ dřevina a nemocné lesy. Lesn. práce 3, 22–24.
- Masterson, J., 1994. Stomatal Size in Fossil Plants: Evidence for Polyploidy in Majority of Angiosperms. Science 264, 421–424. <https://doi.org/10.1126/science.264.5157.421>.
- McAllister, H., Ashburner, K., 2007. 593. *BETULA MEGRELICA*. Curtis's Bot. Mag. 24, 174–179. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8748.2007.00582.x>.
- Mirek, Z., Piękoś-Mirkowa, H., Zając, A., Zając, M., 2002. Flowering plants and pteridophytes of Poland – a checklist, in: Biodivers. Pol. 1. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Krakow, s. 442.
- Missbach, E.R., 1908. *Betula seideliana*. Allg. Bot. Zeitschrift für Syst. Floristik, Pflanzengeographie 14.
- Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G., Worm, B., 2011. How many species are there on earth and in the ocean? PLoS Biol. 9, 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127>.
- Morghenthaler, H., 1915. Beiträge zur Kenntnis des Formenkreises der Sammelart *Betula alba* L. mit variationsstatistischer Analyse der Phaenotypen. Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft Zürich 60, 433–567.
- Natho, G., 1959. Variationsbreite und Bastardbildung bei mitteleuropäischen Birkensippen. Repert. Nov. specierum regni Veg. 61, 211–273. <https://doi.org/10.1002/fedr.19590610304>.
- Natho, G., 1976. Zu Fruchtmorphologie und Gliederung der Gattung *Betula* L. Gladischia 4, 9–21.
- Otto, F., 1990. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. Methods Cell Biol. 33, 105–10.
- Palmé, A.E., Su, Q., Palsson, S., Lascoux, M., 2004. Extensive sharing of chloroplast haplotypes among European birches indicates hybridization among *Betula pendula*, *B. pubescens* and *B. nana*. Mol. Ecol. 13, 167–178. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.02034.x>.
- Pawłowska, L., 1980. Flavonoids III. Flavonoids of *Betula oycoviensis*. Acta Soc. Bot. Pol. 49, 311–320.

- Pawlowska, L., 1983. Biochemical and systematic study of the genus *Betula* L. Acta Sci. Bot. Pol. 52, 301–3014. <https://doi.org/DOI: 10.5586/asbp.1983.034>.
- Pawłowska, L., 2014. Flavonoids in the leaves of Polish species of the genus *Betula* L. IV. The flavonoids of *Betula pubescens* Ehrh., *B. carpatica* Waldst., *B. tortuosa* Ledeb., and *B. nana* L. leaves. Acta Soc. Bot. Pol. 51, 403–411. <https://doi.org/10.5586/asbp.1982.037>.
- Petr, L., Novák, J., 2014. High vegetation and environmental diversity during the Late Glacial and Early Holocene on the example of lowlands in the Czech Republic. Biologia 69, 847–862. <https://doi.org/10.2478/s11756-014-0381-9>.
- Podrázský, V., Ulbrichová, I., Moser, W.K., 2005. Využití břízy a smrku pichlavého při obnově porostů na plochách s nenarušenou vrstvou nadložního humusu. Zprávy Lesn. výzkumu 50, 75–77.
- Poland, J., Clement, E., 2009. The Vegetative Key to the British Flora: A new approach to naming British vascular plants based on vegetative characters. Poland John, Southampton, in association with the Botanical Society of the British Isles, London.
- Porras-Hurtado, L., Ruiz, Y., Santos, C., Phillips, C., Carracedo, Á., Lareu, M.V., 2013. An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software. Front. Genet. 4, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00098>.
- Presl, J.S., Presl, K.B., 1819. Flora Čechica: indicatis medicinalibus, economicis technologicisque plantis – Kwětena Česká: spoznamenánjm lékařských, hospodařských a řemeslnických rostlin. Calve, J.G., Prague.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155, 945–59.
- R Core Team, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Radford, A.E., 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row, New York, USA.
- Realini, M.F., Poggio, L., Cámara-Hernández, J., González, G.E., 2016. Intra-specific variation in genome size in maize: cytological and phenotypic correlates. AoB Plants 8, plv138. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv138>.
- Regel, E., 1865. Bemerkungen über die Gattungen *Betula* und *Alnus* nebst Beschreibung einiger neuer Arten. Bull. Soc. Nat. 38, 388–434.

- Reichenbach, H.G.L., Reichenbach, H.G., 1850. *Icones florae Germanicae et Helveticae, simul Pedemontanae, Tirolensis, Istriacae, Dalmaticae, Austriacae, Hungaricae, Transylvanicae, Moravicae, Borussicae, Holsaticae, Belgicae, Hollandicae, ergo Mediae Europae.*, Bd. 1. F. Hofmeister [etc.], Leipsic, Germany, 2. vydání.
- Reisner, J., Zeidler, A., 2010. Možnosti využití dřeva břízy. *Lesn. práce* 89, 30–31.
- Rosenberg, N.A., 2004. DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes* 4, 137–138. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x>.
- Röpert, D., 2000. *Betula carpatica* Waldst. & Kit. ex Willd. /Digital specimen images at the Herbarium Berolinense/; Willdenow folder: B_-W_17668; accessed 14 Jul 2017; barcode: B -W 17668 -00 0; Stable identifier for specimen citations: <http://herbarium.bgbm.org/object/BW1>.
- Rutkowski, L., 2018. Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2. vydání.
- Särkilahti, E., Valanne, T., 1990. Induced polyploidy in *Betula*. *Silva Fenn.* 24, 227–234. <https://doi.org/10.14214/sf.a15577>.
- Šach, F., 2005. Meliorační a zpevňující dřeviny ve vztahu k funkcím lesa, in: Neuhöferová, P. (Ed.), *Místo biologické meliorace v obnově lesních stanovišť*. ČZU, FLE, Katedra pěstování lesů, Praha, s. 7–13.
- Seneta, W., Dolatowski, J., 2008. *Dendrologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Shaw, K., Stritch, L., Rivers, M., Roy, S., Wilson, B., Govaerts, R., 2014. The red list of *Betulaceae*. Botanic Gardens Conservation International, Richmond, UK.
- Schenk, M.F., Thienpont, C.N., Koopman, W.J.M., Gilissen, L.J.W.J., Smulders, M.J.M., 2008. Phylogenetic relationships in *Betula* (*Betulaceae*) based on AFLP markers. *Tree Genet. Genomes* 4, 911–924. <https://doi.org/10.1007/s11295-008-0162-0>.
- Siegel, S., Castellan Jr., N.J., 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*, 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, NY, England.
- Skokanová, K., 2003. Rod *Betula* L. na Slovensku (diplomová práce). Univerzita Komenského v Bratislave.

- Skvortsov, A.K., 2002. A New System of the Genus *Betula* L. – the Birch. Bull. Mosc. Natur. Soc. Otd. Biol. 107, 73–76.
- Slodičák, M., Novák, J., 2008. Výchova porostů náhradních dřevin. Recenzovaná metodika. VÚLHM, Opočno.
- Sołtys-Lelek, A., Barabasz-Krasny, B., 2009. Protected vascular plant species of Ojców National Park (S Poland), in: Mirek, Z., Nikel, A. (Eds.), Rare, Reli. Endanger. plants fungi Pol. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków, s. 487–501.
- Stace, C.A., 1991. New Flora of The British Isles. Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, New York.
- Stace, C.A., 1989. Plant Taxonomy and Biosystematics. Cambridge University Press, Cambridge, Spojené království.
- Staszkiwicz, J., 1986. *Betula szaferi* – A new species of the genus *Betula* L. from Poland.
- Staszkiwicz, J., 2013. Brzoza ojcowska (*Betula oycoviensis* Bess.) na górze Skielek w Beskidzie Wyspowym. <http://www.brzozanaskielku.republika.pl>.
- Staszkiwicz, J., Wójcicki, J., 1992. „*Betula × oycoviensis*“ Besser in the environs of Kraków (S. Poland). Veröffentlichungen des Geobot. Institutes der Eidgenössische Tech. Hochschule, Stift. Rübel, Zürich 107, 94–97.
- Steenis, C., 1957. Specific and infraspecific delimitation. Flora Malesiana, Ser. 1. 5, 167–234.
- Stuessy, T.F., 2006. Principles and practice of Plant Taxonomy, in: Taxon. plant Conserv. Cambridge University Press, Cambridge, New York, s. 368.
- Suda, J., Pyšek, P., 2010. Flow cytometry in botanical research: Introduction. Preslia 82, 1–2.
- Sýkora, T., 1983. Taxonomie a rozšíření bříz okruhu *Betula alba* v Českém masivu. Zprávy Československé Bot. Společnosti 18, 1–14.
- Sýkora, T., Hadač, E., 1984. Příspěvek k fytogeografii Adršpašsko-Teplických skal. Preslia 56, 359–376.
- Szafer, W., Kulczyński, S., Pawłowski, B., 1967. Rośliny Polskie. Polska Akademia Nauk, Warszawa, Polsko.

- Szwabowicz, A., 1976. Microsporogenesis of *Betula oycoviensis* Bess. and of its progeny. Acta Soc. Bot. Pol. 45, 169–184. <https://doi.org/10.5586/asbp.1976.016>.
- Te Beest, M., Le Roux, J.J., Richardson, D.M., Brysting, A.K., Suda, J., Kubešová, M., Pyšek, P., 2012. The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. Ann. Bot. 109, 19–45. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr277>.
- Thórsson, Æ.T., Pálsson, S., Lascoux, M., Anamthawat-Jónsson, K., 2010. Introgression and phylogeography of *Betula nana* (diploid), *B. pubescens* (tetraploid) and their triploid hybrids in Iceland inferred from cpDNA haplotype variation. J. Biogeogr. 37, 2098–2110. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02353.x>.
- Thórsson, Æ.T., Pálsson, S., Sigurgeirsson, A., Anamthawat-Jonsson, K., 2007. Morphological variation among *Betula nana* (diploid), *B. pubescens* (tetraploid) and their triploid hybrids in Iceland. Ann. Bot. 99, 1183–1193. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm060>.
- Tsuda, Y., Ueno, S., Ide, Y., Tsumura, Y., 2009a. Development of 14 EST-SSRs for *Betula maximowicziana* and their applicability to related species. Conserv. Genet. 10, 661–664. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9608-z>.
- Tsuda, Y., Ueno, S., Ranta, J., Salminen, K., Ide, Y., Shinohara, K., Tsumura, Y., 2009b. Development of 11 EST-SSRs for Japanese white birch, *Betula platyphylla* var. *japonica* and their transferability to related species. Conserv. Genet. 10, 1385–1388. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9701-3>.
- Tuley, G., 1973. A taxonomic history of the British birch tree. Trans. Bot. Soc. Edinburgh 42, 31–41. <https://doi.org/10.1080/03746607308685260>.
- Uri, V., Vares, A., Tullus, H., Kanal, A., 2007. Above-ground biomass production and nutrient accumulation in young stands of silver birch on abandoned agricultural land. Biomass and Bioenergy 31, 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2006.08.003>.
- Úradníček, L., Maděra, P., Martinková, M., 2001. Phenotypic selection of plus trees and plus stands of birch for reforestation of the Krušné hory Mts. J. For. Sci. 47, 82–86.
- Vacek, S., Balcar, V., 1999. Contribution to ecology and health state of birch stands in the Sudeten Mountains. J. For. Sci. 45, 181–185.

- Vašut, R.J., 2019. *Betula* L. – bříza, in: Kaplan, Z. (Ed.), Klíč ke květeně České Republiky. Academia, Praha, s. 1172.
- VÚLHM, 1990. Evidenční list výzkumné plochy Jizerka.
- Wakamiya, I., Newton, R., Johnston, J., Price, H., 1993. Genome size and environmental factors in the genus *Pinus*. *Am. J. Bot.* 80, 1235–1241.
- Waldstein, F.d.P.A.G., Kitaibel, P., 1802. *Descriptiones et icones plantarum rariorum Hungariae*. Vol. 1. Typis Matthiae Andreae Schmidt, Viennae (Víděň).
- Waldstein, F.d.P.A.G., Kitaibel, P., 1805. *Descriptiones et icones plantarum rariorum Hungariae*. Vol. 2. Typis Matthiae Andreae Schmidt, Viennae (Víděň).
- Walters, S.M., 1993. *Betula* L., in: Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.D., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.), *Flora Europaea*. Cambridge University Press, Cambridge, Bd. 1, 2. vydání, s. 68–69.
- Wang, N., Kelly, L.J., McAllister, H.A., Zohren, J., Buggs, R.J.A., 2020. Resolving phylogeny and polyploid parentage using genus-wide genome-wide sequence data from birch trees. *bioRxiv*, 2020.07.13.200444 <https://doi.org/10.1101/2020.07.13.200444>.
- Wang, N., McAllister, H.A., Bartlett, P.R., Buggs, R.J.A., 2016. Molecular phylogeny and genome size evolution of the genus *Betula* (*Betulaceae*). *Ann. Bot.* 117, 1023–1035. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw048>.
- Wheeler, Q.D., 2004. Taxonomic triage and the poverty of phylogeny. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 359, 571–583. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1452>.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*.
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K., 2020. *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*.
- Wielgolaski, F.E., 2001. *Nordic Mountain Birch Ecosystems*. The Parthenon Publishing Group, Paris.
- Willdenow, C.L., 1805. *Caroli a Linné Species plantarum: exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas*. Impensis G.C. Nauk, Berlin, 4. vydání.

- Willkomm, H.M., 1887. Forstliche Flora von Deutschland und Oesterreich; oder, Forstbotanische und pflanzengeographische Beschreibung aller im Deutschen Reich und Oesterreichischen Kaiserstaat heimischen und im Freien angebauten oder anbauungswürdigen Holzgewächse. Winter, C.F., Leipzig, Německo.
- Wilson, E.O., 2004. Taxonomy as a fundamental discipline. Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci. 359, 739. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1440>.
- Wimmer, F., 1839. Bericht der botanischen Section im Jahre 1838, in: Wendt, J. (Ed.), Uebersicht der Arb. und Veränderungen der der Schlesischen Gesellschaft für Vaterländische Cult. im Jahre 1838. Grass, Barth und Comp., Breslau, s. 123–138.
- Winkler, H., 1904. *Betulaceae*, in: Engler, A. (Ed.), Das Pflanzenreich IV/61. W. Engelmann, Leipzig, Germany, s. 1–149.
- Zakopal, V., 1958. Přínos břízy pro zalesnění našich kalamitních holin. Lesn. práce 31, 487–491.
- Zakopal, V., 1960. Kdy, jak a v jakém rozsahu kultivovat břízu na holiny. Lesn. práce 39, 292–296.
- Zerbe, S., Meiwes, K.J., 2000. Zum Einfluß von Weichlaubhölzern auf Vegetation und Auflagehumus von Fichtenforsten – Untersuchungen in einem zwei Jahrzehnte alten Birken-Ebereschen-Vorwald im Hoch-Solling. Forstwissenschaftliches Cent. 119, 1–19.
- Zuber, V., Strimmer, K., 2009. Gene ranking and biomarker discovery under correlation. Bioinformatics 25, 2700–2707. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp460>.

Použité elektronické zdroje

Wild, J., Kaplan, Z., Danihelka, J., Petřík, P., Chytrý, M., Novotný, P., Rohn, M., Šulc, V., Brůna, J., Chobot, K., Ekrt, L., Holubová, D., Knollová, I., Kocián, P., Štech, M., Štěpánek, J., Zouhar, V., 2019. Plant distribution data for the Czech Republic integrated in the Pladias database. Preslia 91, 1–24.

Použité legislativní zdroje

Vyhláška č. 298/2018 Sb., o zpracování oblastních plánů rozvoje lesů a o vymezení hospodářských souborů. Znění 1. 1. 2019 (verze 1)

Zákon č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny.

Příloha

Seznam příloh

1. Počet odebraných vzorků pro studium morfologické a genetické variability mezi diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza na území Českého masivu (soubor 5 tabulek)
2. Počet odebraných vzorků pro studium morfologické a genetické variability mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré na území ČR a Polska (1 tabulka)
3. Použité mikrosatelitové markery pro analýzy genetických příbuzností mezi vybranými skupinami
4. Pravděpodobný holotyp *B. carpatica* – herbářová položka
5. Relevantní autorské publikace

Příloha 1

Počet odebraných vzorků pro studium morfologické a genetické variability mezi diploidními a tetraploidními jedinci rodu bříza na území Českého masivu (soubor 5 tabulek)

Region	Lokalita	Souřadnice	Nadmořská výška (m n. m.)	Taxon (pracovní zařazení)	Počet vzorků
Brdy	Padrt'ské rybníky	N 49,6450 E 013,7667	640	8	6
	Třemšín	N 49,5683 E 013,7783	780	1	1
		2	1		
		15	4		
	Malá Praha	N 49,6540 E 013,8217	820	15	6
		Čáp	N 50,5783 E 016,1283	700	1
	2		1		
	Koruna	N 50,5217 E 016,3233	750	1	2
		15	2		
	Broumovsko	Pod Korunou	N 50,5267 E 016,3150	730	15
1			6		
Teplické skály		2	1		
		4	1		
		8	1		
		15	8		
		15	7		
Vičí rokle		N 50,6040 E 016,1255	540	15	7
Havraní město		N 50,6143 E 016,1127	515	1	1
		3	1		
alej u Radošfina	N 49,6535 E 015,8813	620	9	1	
Českomoravská vrchovina	Radostinské rašeliniště	N 49,6600 E 015,8850	620	1	2
		8	1		
	11	1			
	12	5			
	Velké Dářko	8	3		
		9	1		
		10	1		
		11	1		
		11	1		
	Hroudá u Hor, Heřmanovic	N 50,3817 E 017,1233	280	1	2
8		1			
10	1				
Malá kotlina	N 50,0400 E 017,2100	1240	1	3	
	11	1			
	12	2			
	12	2			
Jeseníky	Rejvíz	N 50,2200 E 017,2967	760	1	2
		12	4		
	Skorošice	N 50,3200 E 017,0683	380	1	3
		4	4		
Skřítek	N 49,9933 E 017,1600	840	12	4	
Velká kotlina	N 50,0567 E 017,2383	1225	11	1	
		12	4		
	13	1			

Region	Lokalita	Souřadnice	Nadmořská výška (m n. m.)	Taxon (pracovní zařazení)	Počet vzorků
Jizerské hory	Čínská cesta	N 50,8583 E 015,2533	765	5	5
	Jizera	N 50,8333 E 015,2733	1010	1	3
	Lasičí (výzkumná plocha)	N 50,8287 E 015,3543	980	7	5
	Malá Strana	N 50,7650 E 015,2050	715	5 13	3 1
	Panelka (výzkumná plocha)	N 50,8188 E 015,3523	855	12	5
	Pytlácké kameny	N 50,8430 E 015,3345	960	1	3
	Velká Jizerská louka	N 50,8500 E 015,3467	830	12	8
	Hvězda	N 50,6038 E 014,4353	365	15 11	5 6
	Labský důl	N 50,7617 E 015,5533	1040	12 13 14	23 1 1
	Malá Kotelní jáma	N 50,7467 E 015,5333	1125	12	1
Krkonoše	Obří důl	N 50,7317 E 015,7233	1100	12 13 14	4 1 2
	Velká Kotelní jáma	N 50,7483 E 015,5367	1115	12	19
	Boží Dar	N 50,4033 E 012,9017	1015	1 7 12 13	1 1 18 2
	Jezerka	N 50,5467 E 013,4817	635	1 2	8 1
	Novodomské rašeliniště	N 50,5517 E 013,2700	820	1 9 12 13	2 1 2 1
	Prebuz	N 50,3832 E 012,5995	890	12	2
	Úhošť	N 50,3633 E 013,2383	540	1	8
	Velké Jeřábí jezero	N 50,4068 E 012,5940	945	8 12	1 1
	Volyně u Výsluní	N 50,4425 E 013,2185	715	1 2 6 18	4 1 20 1

Region	Lokalita	Souřadnice	Nadmořská výška (m n. m.)	Taxon (pracovní zařazení)	Počet vzorků
Křivoklátsko	Leontýnský potok	N 50,1402	E 013,8418	1	4
				8	3
Plzeňsko	Kamenný rybník	N 49,7917	E 013,3783	8	6
				10	3
střední Čechy	Klánovice (Praha)			4	1
				8	6
			250	9	1
				10	1
				1	2
Kersko		N 50,1565	E 014,9293	2	1
			194	8	9
Mínice		N 50,2198	E 014,2933	9	1
			184	1	3

Region	Lokalita	Souřadnice	Nadmořská výška (m n. m.)	Taxon (pracovní zařazení)	Počet vzorků
Šumava	Horská Kvilda	N 49,0583 E 013,5600	1055	12	6
				13	3
	Chalupská slat'	N 48,9983 E 013,6600	905	16	1
				12	10
				13	1
	Jezerní slat'	N 49,0383 E 013,5717	1070	7	1
				12	7
				13	3
				16	3
				17	1
	Kaňon Křemelné	N 49,1033 E 013,4483	745	1	1
				12	6
				13	1
	Novohůrecké slatě	N 49,1533 E 013,3250	875	12	5
	Obří hrad (Šafářův vršek)	N 49,1067 E 013,5867	805	1	1
11				1	
12				3	
15				1	
1				4	
Paštěcké skály	N 49,1148 E 013,4880	670	2	1	
			5	3	
			12	2	
			13	3	
			18	1	
			1	1	
Slatinný potok	N 49,1650 E 013,2883	950	12	3	
			13	1	
			12	7	
Soumarský most	N 48,9133 E 013,8183	750	13	1	
			12	2	
Splavské rašelinště	N 48,9017 E 013,7267	810	13	4	
			13	4	
Vltavský luh (Pěkná)	N 48,8517 E 013,9183	730	8	1	
			12	6	

Region	Lokalita	Souřadnice	Nadmořská výška (m n. m.)	Taxon (pracovní zařazení)	Počet vzorků
Třeboňsko	Červené blato	N 48,8587 E 014,8080	483	1	3
				8	6
	Rašeliniště Pele	N 48,9592 E 014,9655	469	18	1
Třeboňsko	Žofinka	N 48,8323 E 014,8773	474	1	3
				4	1
		8	1		

Příloha 2

Počet odebraných vzorků pro studium morfologické a genetické variability mezi populacemi břízy ojcovské a břízy bělokoré na území ČR a Polska (1 tabulka)

Stát	Region	Lokalita	Souřadnice	Taxon	Počet vzorkovaných jedinců
ČR	Krušné hory	Božidarské rašeliniště	N 50,408 E 12,908	<i>B. nana</i>	1
			N 50,478 E 13,431	<i>B. pendula</i> (CZ)	1
	Novodvorské rašeliniště	Chomutov	N 50,546 E 13,481	<i>B. oycoviensis</i> (CZ)	2
			N 50,551 E 13,277	<i>B. pendula</i> (CZ)	9
	Úhošť	Novodvorské rašeliniště	N 50,363 E 13,239	<i>B. pendula</i> (CZ)	2
			N 50,445 E 13,216	<i>B. pendula</i> (CZ)	8
	Křivoklátsko	Volyně	N 49,951 E 13,813	<i>B. oycoviensis</i> / <i>B. pendula</i> (CZ)	4
			N 50,006 E 14,836	<i>B. oycoviensis</i> (CZ)	33
	Výzk. stanice Truba	Křivoklátsko	N 49,951 E 13,813	<i>B. oycoviensis</i> / <i>B. pendula</i> (CZ)	1
			N 50,006 E 14,836	<i>B. szajferi</i> („vypěstovaná“)	7
Polsko	Kobylany	Truba	N 50,155 E 19,760	<i>B. atrata</i>	1
				<i>B. obscura</i>	1
				<i>B. oycoviensis</i> / <i>B. pendula</i> (PL)	1
				<i>B. oycoviensis</i> (PL)	16
				<i>B. pendula</i> (PL)	5
	Krakov	Skielek	N 49,613 E 20,464	<i>B. humilis</i>	1
				<i>B. oycoviensis</i> / <i>B. pendula</i> (PL)	2
	Krakov – Herbář	Herbář	—	<i>B. oycoviensis</i> (PL)	2
				<i>B. pendula</i> (PL)	7
	Krakov – Herbář	Herbář	—	<i>B. oycoviensis</i> (PL)	5
<i>B. szajferi</i> (herbář)				1	

Příloha 3

Použité mikrosatelitové markery pro analýzy genetických příbuzností
mezi vybranými skupinami

ID	Sekvence primeru (5' → 3')	Skladba repetice	Teplota nasedání (annealing)	Zdroj
L012	F: TGGTTGACGTGACGTTGATT	(GA) ₆ TA(GA) ₆		
	R: GGCCCATAGGGAAGATAAGC			
L022	F: AACGGACAAATTACCGGTA	(CT) ₁₈		
	R: GGAGTTCAITGGAITGGAGGA			
L2.7	F: CCGCCGGTAACACTAAACC	(TC) ₈ (TA) ₈ (TG) ₁₁ TT(TG) ₃		
	R: GAGGGAAGAAAAITCAAACGG			
L3.1	F: CTCCTTAGCTGGCAGGGAC	(CT) ₃ CC(CT) ₂ CC(CT) ₁₃ AT(CT) ₅	57 °C	Kulju et al. (2004)
	R: CCCTTCTTCATAAAAACCCCTCAA			
L3.4	F: AACCCCTCGTTGGCTACTGA	(GTAT) ₃ (GT) ₅		
	R: GAAACAGTTACTAGTCAAACCTGAAAACC			
L5.4	F: AAGGGCACCTGCAGATTAGA	(TC) ₂₆		
	R: AAAATTGCAACAAAACGGTGC			
L7.1	F: GTTTGGGTTCCACITGCA	(CT) ₁₂ CCCTT(CT) ₄		
	R: ACTGGTAATACCTTTACCAAGCC			
L7.8	F: GGCCAACAAGATATAAAAACGACG	(CT) ₁₁ GC(AATG) ₂		
	R: TTTTAAATGCCCAACCTTCCC			
Bema1	F: ATGCTTCAGAAATCCCGAATTGTTTC	(TA) ₃ TGAACG(TA) ₃ AAACAGACAA(TA) ₃		
	R: GTTTAACCGAAAACCTACCACGTGAACCA			
Bema7	F: AGGTTGCTCAACCTAAACCAACAT	(TC) ₈	55 °C	Tsuda et al. (2009a)
	R: GTTTGGACAAGAACAACCCACCAAG			
Bema11	F: ACCAAGTGAACCTTACAAAAGGCGA	(TC) ₁₀		
	R: GTTTCCTGCTATAAGGCCTGCACCT			
Bep13	F: ACAATAATCTCACAANAATCTGCCCGC	(TC) ₉	55 °C	Tsuda et al. (2009b)
	R: GTTTAACCTGAACGTCTCAAAGGTCC			

Pozn.: F - „forward“, přední primer; R - „reverse“, zadní primer

Příloha 4

Pravděpodobný holotyp *B. carpatica* – herbářová položka



Zdroj: Kurátoři Herbáře B (2000+). Digitální vzorky v Herbariu Berolinense. [Datová sada]. Verze: 13. října 2020. Vydavatel: Botanická zahrada a Botanické muzeu v Berlíně. <http://ww2.bgbm.org/herbarium/> [<https://herbarium.bgbm.org/object/BW17668010>, ID obrázku: 398019].

Příloha 5

Relevantní autorské publikace

Kuneš, I., Linda, R., Fér, T., Karlík, P., Baláš, M., Ešnerová, J., Vítámvás, J., Bílý, J., Urfus, T., 2019. Is *Betula carpatica* genetically distinctive? A morphometric, cytometric and molecular study of birches in the Bohemian Massif with a focus on Carpathian birch. PLoS One 14, 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224387>

Linda, R., Kuneš, I., Baláš, M., 2020. Genetic and morphometric variability between populations of *Betula × oycoviensis* from Poland and Czechia: A revised view of the taxonomic treatment of the Ojców birch. PLoS One 15, e0243310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243310>

Linda, R., Kuneš, I., Baláš, M., Gallo, J., 2017. Morphological variability between diploid and tetraploid taxa of the genus *Betula* L. in the Czech Republic. J. For. Sci. 63, 531–537. <https://doi.org/10.17221/105/2017-JFS>