

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra pěstování lesů



**Morfologická a genetická variabilita bříz
na území Broumavska**

Diplomová práce

Autor práce: Zamastilová Petra

Vedoucí práce: doc. Ing. Ivan Kuneš Ph.D.

2020

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Petra Zamastilová

Lesní inženýrství

Lesní inženýrství

Název práce

Morfologická a genetická variabilita bříz na území Broumovska

Název anglicky

Morphological and genetic variability of birches in the Broumovsko region

Cíle práce

Posoudit morfologickou a genetickou variabilitu diploidních a tetraploidních bříz na Broumovsku s ohledem na akvizici reprodukčního materiálu lesních dřevin.

Metodika

Navažte na problematiku, kterou jste zpracovávala v rámci své bakalářské práce, dále ji rozvedte a doplňte ji o výstupy molekulárních analýz.

Na základě morfometrických dat (např. z lokalit Čáp, Koruna, Pod Korunou, Teplická ozvěna a Vlčí rokle), výstupů z průtokové cytometrie a molekulárních analýz zjistěte rozdíly v parametrech diploidních a tetraploidních druhů bříz. Porovnejte Vaše výstupy s již publikovanými výsledky.

Diskutujte svá zjištění s ohledem na problematiku taxonomického postavení bříz.

Doporučený rozsah práce

min. 45 stran

Klíčová slova

bříza pýřitá; bříza skalní; bříza karpatská; bříza bělokorá

Doporučené zdroje informací

- Atkinson MD, Codling AN. 1986. A reliable method for distinguishing between *Betula pendula* and *B. pubescens*. *Watsonia* 16: 75–87.
- Atkinson MD. 1992. *Betula Pendula* Roth (*B. Verrucosa* Ehrh.) and *B. Pubescens* Ehrh. *The Journal of Ecology* 80: 837–870.
- Ešnerová J, Karlík P, Zahradník D, Koňasová T, Stejskal J, Baláš M, Vítámvás J, Rašáková N, Stacho J, Kuthan J, et al. 2012. Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. *Zprávy lesnického výzkumu* 57: 112–125.
- Gardiner AS, Jeffers JNR. 1962. Analysis of the collective species *Betula alba* L. on the basis of leaf measurements. *Silvae Genetica* 11: 125–176.
- Gill JA, Davy AJ. 1983. Variation and polyploidy within lowland populations of the *Betula pendula*/*B. pubescens* complex. *New Phytologist* 94: 433–451.
- Mallet J. 2007. Subspecies, Semispecies, Superspecies. *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier. 1–5.
- Steenis C. 1957. Specific and Intraspecific Delimitation. – *Flora Malesiana, Series 1* (5): 167–234.
-

Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FLD

Vedoucí práce

doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra pěstování lesů

Konzultant

Ing. Rostislav Linda

Elektronicky schváleno dne 22. 2. 2019

prof. Ing. Vilém Podrázský, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 13. 3. 2019

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 23. 05. 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci na téma „Morfologická a genetická variabilita bříz na území Broumovska“ vypracovala samostatně pod vedením doc. Ing. Ivana Kuneše, Ph.D. a s použitím uvedené literatury a pramenů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Litětínách dne 10. 6. 2020

.....
Podpis autora

Poděkování

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Ivanovi Kunešovi, Ph.D. za vedení práce, Ing. Rostislavu Lindovi za velmi ochotnou pomoc, rady, připomínky a za celkový přístup při psaní této práce.

Abstrakt

Tato práce se zabývá zhodnocením morfologické variability mezi diploidními ($2n$) a tetraploidními ($4n$) jedinci z rodu bříza (*Betula L.*) z území Broumova na základě měření vybraných listových parametrů a posouzením jejich genetické variability pomocí průtokové cytometrie a analýzy mikrosatelitů.

Celkem byly odebrány vzorky z 54 jedinců ze 7 lokalit na Broumovsku. Sběr vzorků proběhl v roce 2010 a v roce 2017 byl doplněn o další jedince. Pro morfometrická měření byly z každého jedince odebrány 4 listy, na kterých bylo celkem měřeno 16 kvantitativních parametrů. Detailním zhodnocením morfologické variability se v minulosti věnovala bakalářská práce. Zbýlý materiál byl použit na analýzu velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie a pro účely dalších genetických analýz (analýzy mikrosatelitů).

Z analýzy velikosti genomu vyplývá, že tetraploidní jedinci vykazují vyšší $1Cx$ hodnoty než diploidní, avšak pro jasný závěr by bylo nutné testování na více vzorcích. Přibližně 50% podíl sdílených alel naznačuje, že tetraploidní jedinci jsou alopolyloidního původu.

Výsledky shlukové analýzy (analýza mikrosatelitů) ukázaly, že genetická variabilita mezi diploidy je minimální; i přes jisté morfologické odlišnosti tvoří diploidní jedinci ucelenou genetickou skupinu. U tetraploidních jedinců byla naopak pozorována relativně vysoká genetická variabilita, i přesto výsledky naznačují, že všechny zkoumané vzorky patří jednoho tetraploidního „taxonu“, který je však značně variabilní. Tyto výsledky potvrdila také analýza hlavních koordinát.

Klíčová slova: bříza pýřitá; bříza skalní; bříza karpatská; bříza bělokorá

Abstract

The thesis is concerned with evaluation of morphological variability between diploid ($2n$) and tetraploid ($4n$) taxa of the genus (*Betula* L.) from Broumov region based on measurements of specific leaf parameters and with assessment of their genetic variability using flow cytometry and analysis of microsatellites.

In total, samples of 54 individuals from 7 sites in Broumovsko were collected. Samples were taken in 2010 and completed with samples added in 2017. 4 leaves from each individual were taken for morphometric measurements. A total of 16 quantitative parameters were measured on the leaves. In the past, the bachelor's thesis dealt with a detailed evaluation of morphological variability. Left over material was used for genome size by flow cytometry and for further genetic analyses (microsatellites analysis).

The analysis of the genome size shows that tetraploid individuals show higher $1Cx$ values than diploid ones, however, more testing samples are required to set a definite conclusion. Approximately 50% of shared alleles indicates that tetraploid individuals are of allopolyploid origin.

Results of the clustering analysis (analysis of microsatellites) show minimal genetic variability between individual diploids. However, despite certain morphological differences, diploid individuals form a complete genetic group. On the other hand, high genetic variability was observed in tetraploid individuals, yet the results indicate that all the observed samples belong to the same tetraploid taxon which is significantly variable. These results were confirmed by principal coordinate analysis.

Keywords: *Betula pubescens*; *Betula petraea*; *Betula carpatica*; *Betula pendula*

Obsah

1	Úvod a cíl práce	11
2	Taxonomie a systematika rodu Bříza	13
2.1	Problematika taxonomického zařazení některých taxonů rodu Bříza	14
3	Obecný popis a ekologie	16
4	Charakteristika vybraných druhů	17
4.1	Diploidní druhy	17
4.1.1	Bříza bělokorá – <i>Betula pendula</i> Roth	17
4.2	Tetraploidní druhy	18
4.2.1	Bříza pýřitá – <i>Betula pubescens</i> Ehrh.	18
4.2.2	Bříza karpatská – <i>Betula carpatica</i> W. et K.	19
4.2.3	Bříza skalní – <i>Betula petraea</i> s. Sýkora	20
5	Využití břízy v lesnictví	21
5.1	Pionýrské dřeviny v hospodářském lese	21
5.2	Přípravné porosty	21
5.3	Porosty náhradních dřevin	22
5.3.1	Březové porosty v Krušných horách	23
5.4	Využití a vlastnosti dřeva břízy	25
6	Metodika	26
6.1	Popis lokality – CHKO Broumovsko	26
6.2	Sběr dat	28
6.3	Měření listových parametrů	29
6.4	Průtoková cytometrie	31

6.5	Statistická analýza dat	32
6.6	Izolace DNA a analýza mikrosatelitů.....	33
7	Výsledky.....	34
7.1	Shrnutí výsledků morformetrických analýz.....	34
7.2	Analýza velikosti genomu	35
7.3	Molekulární analýzy.....	36
7.3.1	Shlukové analýzy	37
7.3.2	Analýza hlavních koordinát.....	39
8	Diskuze.....	40
9	Závěr	43
10	Seznam použité literatury a zdrojů.....	44
11	Přílohy.....	50

Seznam obrázků

Obr. 1 – Porovnání vitality diploidních jedinců (vlevo) a tetraploidních jedinců (vpravo) na výzkumné ploše Jizerka. Stáří porostu je v současné době cca 23 let [Zdroj: Linda et al. 2017].....	12
Obr. 2 – Zjednodušené schéma zařazení taxonů, které se přirozeně vyskytují na území ČR. Zdroj (LINDA et al. 2017), upraveno autorem.....	14
Obr. 3 – Pravděpodobný výskyt rodu <i>Betula</i> na území Evropy [Zdroj: BECK 2016].....	17
Obr. 4 – CHKO Broumovsko v rámci ČR, vyznačené NPR, PR a PP [Zdroj: FALTYSOVÁ et al. 2002].....	27
Obr. 5 – Lokality sběru vzorků v oblasti CHKO Broumovsko.....	28
Obr. 6 – Vybrané parametry měřené na listech bříz, označení a-n odpovídá Tab. 3 [Zdroj: EŠNEROVÁ et al. 2012].....	30
Obr. 7 – Výsledek shlukové analýzy u diploidních jedinců rodu <i>Betula</i>	37
Obr. 8 – Výsledek shlukové analýzy u tetraploidních jedinců rodu <i>Betula</i>	38
Obr. 9 – Analýza hlavních koordinát (PCoA) genetických vzdáleností rodu <i>Betula</i>	39

Seznam tabulek

Tab. 1 – rod bříza (<i>Betula</i> L.) rozdělen do podrodů a sekcí.....	13
Tab. 2 – počty jedinců na vybraných lokalitách.....	29
Tab. 3 – kvantitativní délkové a úhlové parametry měřené na listech bříz.....	31
Tab. 4 – porovnání spolehlivosti třech vybraných klasifikačních funkcí.....	34
Tab. 5 – znázornění analýzy velikosti genomu.....	35
Tab. 6 – počet sdílených alel mezi tetraploidními a diploidními jedinci na dvanácti mikrosatelitních lokusech.....	36

1 Úvod a cíl práce

Břízy jsou jednodomé dřeviny z řádu bukotvarých (*Fagales*), vyskytující se ve stromovém i keřovém habitu. Areálem rozšíření je celá severní polokoule vyjma subtropických oblastí (HEJNÝ et SLAVÍK 1990). Bříza je pionýrská dřevina, netolerující stín, která má schopnost rychle kolonizovat holé oblasti. Má široký geografický a edafický rozsah (ATKINSON 1992).

Problematika taxonomického zařazení některých taxonů rodu bříza je zapříčiněna vysokou morfologickou variabilitou některých druhů a také vysoká míra hybridizace (STEENIS 1957). Důkazem je velice odlišný počet druhů, který je různými autory udáván, ten se zpravidla pohybuje mezi 30–140 druhy (ASHBURNER et McALLISTER 2013, JÄRVINEN et al. 2004, HEJNÝ et SLAVÍK 1998). V České republice se přirozeně vyskytuje pět až šest druhů bříz, nejčastěji bříza bělokorá (*Betula pendula* Roth) a bříza pýřitá (*Betula pubescens* Ehrh.). Dále bříza trpasličí (*Betula nana* L.), bříza karpatská (*Betula carpatica* W. et K.) a bříza ojcovská (*Betula oycoviensis* Besser) (ÚRADNÍČEK 2010). Jiní autoři (např. KOŇASOVÁ et al. 2010, KARLÍK 2010) vylišují jako samostatný druh také břízu skalní (*Betula petraea* s. Sýkora), čímž se potvrzují nejasnosti i v taxonomii domácích druhů bříz.

Na kalamitních holinách, které vznikly působením hmyzích škůdců či imisemi, se bříza projevila jako vhodná dřevina pro zalesňování. V imisně poškozených oblastech Jizerských hor, Krušných hor a Krkonoš vznikly v 70. a 80. letech minulého století porosty náhradních dřevin (FERKL 2006). Na obnovu poškozených porostů byly použity přípravné dřeviny, zejména břízy (KULA 2011). Nicméně tyto náhradní porosty v polovině 90. let zasáhlo další rozsáhlé chřadnutí, přičemž část porostů musela být nahrazena jinými dřevinami (SLODIČÁK 2006).

Prováděné studie z výzkumných ploch v Jizerských horách ukázaly, že břízy jsou vhodné k zakládání přípravných porostů. Tetraploidní břízy vykazují na disturbovaných plochách výrazně vyšší vitalitu a také schopnost tvořit zapojené

porosty, ve srovnání s diploidními druhy, to poukazuje na důležitost vhodného výběru druhu bříz při užití jako náhradní dřeviny, viz Obr. 1.



Obr. 1 – Porovnání vitality diploidních jedinců (vlevo) a tetraploidních jedinců (vpravo) na výzkumné ploše Jizerka. Stáří porostu je v současné době cca 23 let [Zdroj: Linda et al. 2017].

Správně zvolený konkrétní druh břízy při uplatňování v extrémních podmínkách může zaručit úspěch pěstebního opatření. Při nerespektování původu a druhu břízy můžeme očekávat neúspěšný výsledek v oblasti pěstební činnosti. Rozlišení tetraploidních druhů bříz je v praxi velice obtížné, v některých případech jsou těžko odlišitelné i od diploidní břízy bělokoré (KUNEŠ et al. 2010).

Pro rozlišení diploidních a tetraploidních druhů v terénních podmínkách byly v minulosti stanoveny morfologické parametry měřené na listech bříz a ověřující diskriminační funkce vycházející z naměřených hodnot listových parametrů (EŠNEROVÁ et al. 2012). Udávané parametry však mohou vykazovat rozdílnou spolehlivost, především v závislosti na populaci (LINDA et al. 2017). V současné době jsou k dispozici modernější metody, jako je metoda průtokové cytometrie nebo analýza mikrosatelitních oblastí jaderné DNA, tyto metody mohou vyřešit problém taxonomického zařazení (KARLÍK 2010).

Cílem této práce je zrekapitulovat morfologickou variabilitu a zhodnotit genetickou variabilitu mezi diploidními a tetraploidními břízami na Broumovsku. Získané výsledky tak mohou být mimo jiné uplatněny například při identifikaci stromů pro sběr sadebního materiálu.

2 Taxonomie a systematika rodu Bříza

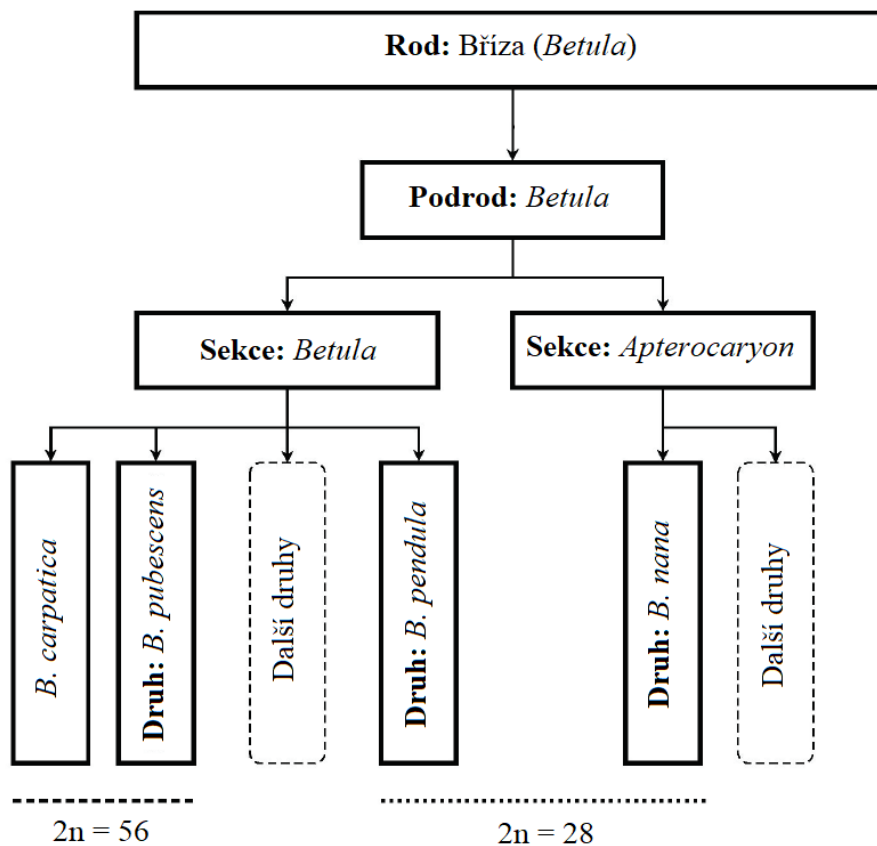
Rod bříza (*Betula*) náleží do čeledi břízovité (*Betulaceae*), řádu bukotvaré (*Fagales*). Čeleď břízovité má dvě podčeledi: *Coryloideae* a *Betuloideae*, do této podčeledi patří rod bříza (*Betula*) spolu s rodem olše (*Alnus*) (FURLOW 1990).

Dle JÄRVINEN et al. (2004) byl rod *Betula* rozdělen do 4 hlavních řad: *Albae*, *Costatae*, *Acuminatae* a *Nanae*. Nyní se uvádí dělení do 4 podrodů a ty následně do 8 sekcí (ASHBURNER et McALLISTER 2013) viz Tab. 1.

Tab. 1 – rod bříza (*Betula* L.) rozdělen do podrodů a sekcí (ASHBURNER et McALLISTER 2013).

Podrod	Sekce
<i>Nipponobetula</i>	<i>Nipponobetula</i>
<i>Aspera</i>	<i>Asperae</i> <i>Lentae</i>
<i>Acuminata</i>	<i>Acuminatae</i>
<i>Betula</i>	<i>Dahuricae</i> <i>Costatae</i> <i>Betula</i> <i>Apterocaryon</i>

Na území České republiky se přirozeně vyskytují druhy pouze ze dvou sekci. Ze sekce *Betula* a sekce *Apterocaryon* viz Obr. 2.



Obr. 2 – Zjednodušené schéma zařazení taxonů, které se přirozeně vyskytují na území ČR. Zdroj (LINDA et al. 2017), upraveno autorem

2.1 Problematika taxonomického zařazení některých taxonů rodu Bříza

Problematika spojená s fylogenezí a taxonomií rodu *Betula* je zapříčiněna zejména rozsáhlou mezidruhovou hybridizací a následnou introgresí (zpětné křížení s rodičovskými druhy). Tyto dva faktory pravděpodobně sehrály důležitou roli ve vývoji tohoto rodu (JÄRVINEN et al. 2004).

Výskyt hybridů a specifických taxonů zvýšil zájem taxonomů o tuto problematiku a snahu o správné zařazení (STEENIS 1957). Zde nastal konflikt, jelikož někteří taxonomové nejasné druhy zařadili jako variantu druhu, jiní jako samostatný druh (MALLET 2007).

Důkazem je velice odlišný počet druhů, který je autory udáván. ATKINSON (1992) a FURLOW (1990) udávají mezi 30–60 druhy, HEJNÝ et SLAVÍK (1990) 120 druhů, VĚTVIČKA (2004) až 140 druhů.

Počátky moderní taxonomie se datují od vynálezu binominální nomenklatury (dvouslovná soustava vědeckých jmen organismů) jejímž autorem je Carl Linné (1707–1778) (MALLET 2007). Od dob Linného zařazení proběhlo zdokonalení technologií pro určování druhů a s tím mnoho objasnění, ale i komplikací. Pro rozlišování druhů byly v minulosti používány především morfologické parametry měřené na listech (GARDINER et JEFFERS 1962, GILL et DAVY 1983), dle STEENISE (1957) pouhé morfologické metody nestačí k rozhodujícímu posouzení taxonů. Použití modernějších technologií zkoumání genetiky, jako je cytogenetika, přispělo k lepšímu pochopení struktury mezidruhové příbuznosti.

Ploidie označuje počet sad chromozomů v buňce (n) (ATKINSON 1992). Základní chromozomové číslo břízy je $x = 14$. Břízy tvoří polyploidní taxony s počtem chromozomů $2n = 28, 56, 70, 84, 112$ (JÄRVINEN et al. 2004) i více (McALLISTER et ASHBURNER 2007).

Na území České republiky se nejčastěji vyskytují dva druhy s odlišnou ploidií, diploidní ($2n = 28$) bříza bělokorá (*Betula pendula*) a tetraploidní ($4n = 56$) bříza pýřitá (*Betula pubescens*) (KARLÍK 2010). Přirozeně vyskytující triploid ($2n = 42$) byl poprvé popsán v Dánsku a poté mnoha dalšími autory. Důkazy prokazatelně naznačují, že většina z nich jsou hybridy (ATKINSON 1992).

Příkladem problematického druhu je bříza karpatská (*Betula carpatica*), která je českými autory považována za samostatný druh (ÚRADNÍČEK et MADĚRA 2001, BURIÁNEK et al. 2014). Někteří zahraniční autoři ji nepovažují za samostatný druh (FURLOW 1990, ASHBURNER et McALIISTER 2013), jiní ji udávají jako poddruh břízy pýřité (GARDINER et JEFFERS 1962, ROTHMALER 2005). Nově je jako poddruh uváděna i v české literatuře (VAŠUT 2019).

Problematika taxonomického členění i u ostatních druhů z okruhu břízy pýřité nebyla doposud vyřešena. Taxonomické zařazení nadále zůstává nejasné (BURIÁNEK et al. 2014).

3 Obecný popis a ekologie

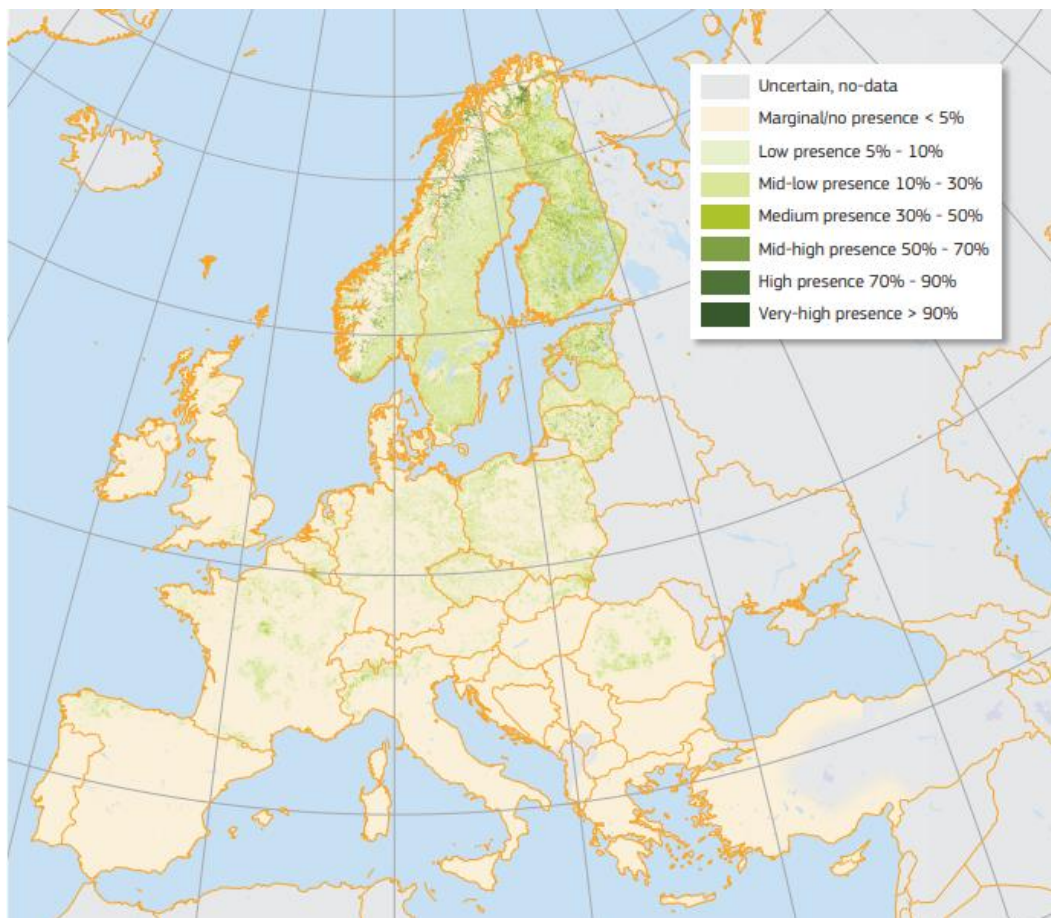
Betula L. – bříza

Břízy jsou stromy nebo keře s opadavými, jednoduchými, střídavě postavenými listy (ÚRADNÍČEK 2010). Jedná se o krátkověké dřeviny, které se dožívají maximálně 100–150 let (KOBLÍŽEK 2006). V mládí je borka nejčastěji bílá (HEJNÝ et SLAVÍK 1990), odlupčivá v tenkých pruzích. Setkat se můžeme také s borkou šedobílou, tmavohnědou až černou. Základní větve jsou vodorovné, boční větve obloukovitě převislé. Kořenový systém je poměrně mělký, avšak bohatě rozvětvený. Daleko sahající vedlejší kořeny dobře upevňují dřevinu v půdě (HIEKE 1978).

Samčí jehnědy přezimují na koncích větví, samičí jehnědy přezimují v pupenech brachyblastů. Plod je jednosemenná křídlatá nažka (KOBLÍŽEK 2006). Stromy rozkvétají poprvé v 15–20 letech, zpravidla v dubnu. Bříza se řadí mezi jednodomé, anemochorní dřeviny (HIEKE 1987).

Jedná se o pionýrské dřeviny (SIMON et BUČEK 2010), které jsou jen málo náročné na stanovištní podmínky, zásadní je pro ně dostatek světla, zástin nesnášejí. V podmínkách České republiky jsou všechny druhy úplně otužilé. Půdním podmínkám se dobře přizpůsobují. Nejvhodnější jsou středně vlhké hlinitopísčité půdy, mnohé najdeme na vlhkých až zamokřených půdách, ale také na chudých, suchých místech. Relativně dobře snáší i znečištěné ovzduší (HIEKE 1978).

Břízy jsou rozšířeny po celé severní polokouli v severních mírných zónách a boreálních zónách (JÄRVINEN et al. 2004). Hranice severního rozšíření tvoří Grónsko, Špicberky, Skandinávský poloostrov a poloostrov Kola (KULA 2011). V některých nordických zemích je bříza brána jako hlavní hospodářská dřevina, na území ČR je považována za dřevinu plevelnou.



Obr. 3 – Pravděpodobný výskyt rodu *Betula* na území Evropy [Zdroj: BECK 2016].

4 Charakteristika vybraných druhů

4.1 Diploidní druhy

4.1.1 Bříza bělokorá – *Betula pendula* Roth

Středně velký strom s rovným kmenem a vejcovitou korunou, dosahující výšky až 30 m a tloušťky až 75 cm. Borka je bílá, ve stáří na bázi kmene černá a hrubě rozpraskaná. Patří mezi krátkověké dřeviny, délka dožití je maximálně 100–150 let (ÚRADNÍČEK et MADĚRA 2001).

Větve nižších řádů jsou jemné a převislé, barva může být světle až tmavě hnědá. Obvykle lysé letorosty jsou často pryskyřičnatě bradavičnaté. Vejcovité zašpicatělé pupeny mají na okraji brvitě šupiny. Délka listů je 3–6 cm, šířka 2,5–5 cm, přičemž bývá nejširší v dolní třetině. Čepel listů je po vyrašení

nerovnoměrně chlupatá, později olysává, má 6–7 postranních žilek. Je trojúhelníkovitě vejčitá až kosníkovitá, dvojitě pilovitá s protaženým vrcholem, na bázi klínovitá až uťatá. Samčí jehnědy se vyskytují na konci loňských letorostů, jsou převislé, za květu dosahují délky 3–7 cm. Samičí jehnědy jsou válcovité, nejprve vzpřímené, po opylení poté převislé, v květu dosahují délky 1–2 cm, za plodu až 4,5 cm. Podpůrná šupina je trojlaločná, kde postranní laloky jsou širší, střední lalok je menší a špičatý. Plodem je 2 mm dlouhá nažka, lem je minimálně 2× širší než semenné pouzdro. Plodit začíná mezi 10–15 rokem, plodí zpravidla každoročně a úroda nažek je bohatá. Je diploidním druhem, tedy $2n = 28$ (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

Bříza bělokorá je silně světlomilná. Není náročná na půdu, dokáže se přizpůsobit různým podkladům, nejčastěji ji najdeme na kyselých horninách, často na písčitých půdách a na skalách. Přirozeně se vyskytuje jako vtroušená dřevina v kyselých doubravách, písečných a reliktních borech, sekundárně na výsypkách, haldách, pasekách a neobhospodařovaných půdách. Je indiferentní ke klimatickým podmínkám (ÚRADNÍČEK et MADĚRA 2001).

Jedná se o eurosibiřský druh, na severu sahá až k polárnímu kruhu, na jihu podél 50° s. š. zasahuje do Pyrenejského pohoří a do Apenin. Východní hranice tvoří evropská část Ruska sahající k hranicím řeky Leny. V České republice je rozšířena po celém území, výjimkou jsou typické lužní lesy. Horní hranicí rozšíření je nadmořská výška 900–1000 m n. m. (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

4.2 Tetraploidní druhy

4.2.1 Bříza pýřitá – *Betula pubescens* Ehrh.

Strom střední velikosti dorůstající do výšky až 20 m, tloušťka kmene přesahuje v příznivých podmínkách přes 50 cm. Kmen je přímý, koruna kulovitá. Nápadně bílá borka je po celém kmeni, bílou barvu mají také tenké větve. Dožívá se výjimečně přes 100 let života, je to krátkověká dřevina (ÚRADNÍČEK 2010).

Větve směřují vzhůru, nepřevislé ani na konci. Letorosty jsou bez pryskyřičných bradavek, červenohnědé, mohou být i hustě pýřité. Pupeny lepkavé, obvejcovité. Listová čepel má eliptický až vejčitý nebo kosníkovitě vejčitý tvar. Je

nepravidelně 2 × pilovitá, bez hlubších zářezů, špičatá, na bázi zaokrouhlená až lehce srdčitá. Délka listu 1–3 cm, šířka 2,5–5 cm, nejširší cca v polovině, na líci barva sytě zelená, na rubu bledá. Postranních žilek 6–7 párů dobře viditelných na rubu. Samčí jehnědy převíslé na konci loňských brachyblastů, samičí jehnědy dlouhé 2,5–3 cm jsou zpočátku přímé, převíslé až po opylení. Trojlaločné podpůrné šupiny mají postranní laloky směřující do stran. Lem nažek je stejně široký až 1,5× širší než semenné pouzdro. Plodit začíná brzy, již od 10 let. Je tetraploidním druhem, $2n = 56, 58$ (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

Je světlomilným druhem, méně náročnější na světlo než *Betula pendula*, ale zástin netoleruje. Roste převážně jednotlivě, případně v malých skupinkách na volné ploše. Zvládá extrémní stanoviště, snáší kontinentální klima, krátkou vegetační dobu i stagnující vodu. Roste na chudých půdách, nejčastěji na kyselých, snese i zrašelinělé. Netoleruje záplavy, hladinu spodní vody vyžaduje na povrchu.

Bříza pýřitá osidluje euroasijský areál. Evropský areál rozšíření sahá až na nejzazší sever, hranice vede pokrajem tundry, na rozsáhlé plochy Sibiře až do lesostepí. Roste na Kavkaze, na Urale a ve Skandinávii. Ve střední Evropě se vyskytuje ve velkém výškovém rozpětí, od nížin po hranice lesa. Ojedinele tvoří souvislé porosty. Na jihu je méně rozšířená, nevyskytuje se v Pyrenejích ani v Apeninách, pouze na severu Balkánského poloostrova. Na území České republiky se vyskytuje na dvou typických stanovištích. Zprvce na bažinatých loukách a slatinách nižších poloh, např. v Dolnomoravském a Dyjskosvrateckém úvalu či Polabí. Druhým stanovištěm jsou rašelinné louky a okraje vrchovišť ve středních polohách až k horní hranici lesa, tj. oblast Krušných hor, Krkonoš, Šumavy, Jeseníku aj. (ÚRADNÍČEK 2010).

4.2.2 Bříza karpatská – *Betula carpatica* W. et K.

Keř nebo strom dosahující výšky až 15 m s ohebným, šikmým kmenem dorůstajícím do 50 cm v průměru a nepravidelnou korunou. Borka má velkou škálu barev, od bílé přes žlutou, načervenalou až po hnědou nebo černou.

Tmavé tenké větve jsou v koruně řídké, letorosty zprvu plstnaté, později olysávají. Na brachyblastech vyrůstají zpravidla 3 listy (ÚRADNÍČEK et MADĚRA 2001). Listová čepel vejčitá až kosníkovitá, špičatá, na rubu rozptýleně

chlupatá, později olysává. Délka listu 2,5–6 cm, šířka listu 2–4 cm. Čepel nejčastěji nestejně 2 × pilovitý s 6–7 páry postranních žilek. 1–3 samčí jehnědy najdeme na konci loňských brachyblastů. Samičí jehnědy, nejčastěji 1, nejprve vzpřímené, po opylování převislé, dlouhé 1,5–3,5 cm. Podpůrné šupiny jsou pýřité, postranní laloky směřují vpřed či mírně do stany. Nažka má užší, nebo stejně široký lem než semenné pouzdro. Tetraploidní druh – $2n = 56$, výjimečně 57, 58 (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

Bříza karpatská je silně světlo milným druhem, který vyžaduje volné prostranství. Vyskytuje se v podmínkách, kde je dostatek vláhy a vysoké srážky. Preferuje kyselé horniny krystalinika. Ideální jsou pro ni humózní, silně skeletové půdy, také sutě příkrých svahů a rašeliny v horských oblastech. Je tolerantní ke krátkému vegetačnímu období, které způsobuje dlouho ležící sníh, který dobře snáší. Odolá pohybujícímu se sněhu, pod kterým se ohýbá a nedochází k velkému poškození.

Její areál rozšíření je omezen na Sudety, Karpaty a jiná hercynská pohoří. V České republice se vyskytuje v Krušných horách, na Šumavě, Slavkovském lese, v Krkonoších a u přilehlých svahů k Bílému Labi. Nejhojněji je zastoupena v Jeseníku ve Velké Kotlině, zde vytváří rozsáhlé houštiny. Roste při hranici lesa, ale vstupuje i do pásma kleče. Typickým stanovištěm jsou vrchoviště a lavinové dráhy.

Bříza karpatská je dodnes diskutována z důvodu nejasného taxonomického zařazení, příčinou je vysoká morfologická variabilita znaků, která je způsobena hybridizací (ÚRADNÍČEK et MADĚRA 2001).

4.2.3 Bříza skalní – *Betula petraea* s. Sýkora

Bříza skalní je problémovým taxonem z okruhu břízy karpatské. Taxonomicky je nedořešena, mnohými taxonomy není uznána jako druh, ale pouze jako poddruh či varieta (BURIÁNEK et al. 2014).

SÝKORA (1983) popisuje břízu skalní jako formu břízy pýřité. Morfologicky se jí podobá, avšak vyznačuje se jistými odlišnostmi, má dvojité pilovité listy, které jsou mezi žilkami lysé, na rubu na žilnatině chlupaté

(BURIÁNEK et al. 2014). Žilnatina má na spodní straně často narezavělý nádech a podpůrné šupiny mají u samičích jehněd odstátá boční křídla.

Charakterizuje se jako druh reliktních borů. Typické jsou pro ni extrémní stanoviště, najdeme ji na skalách, sutích, rašeliništích, či na pískovcových skalách křídlové tabule (SÝKORA 1983).

Výskyt *Betula petraea* se prokázal v subkontinentálních oblastech Evropy, rozptýleně se objevuje v Českém masívu. Typickým stanovištěm v České republice jsou skalní města severočeské křídlové tabule Broumovské stěny, Adršpašsko-Teplické skály, nebo Labské pískovce či Ostaš, podle typického výskytu ve skalních městech je odvozen také název „*petraea*“. Dalšími oblastmi výskytu jsou Brdy, České středohoří, Polomené hory a Český ráj. Druhým typickým stanovištěm pro břízu skalní jsou rašeliniště a také rašelinné pánve. Na území severních Čech je to soustava Jestřebsko-Hamerských kotlin, dále můžeme uvést rašelinné pánve západních Čech, Třeboňska, Šumavy a Českomoravské vysočiny (SÝKORA 1983). Její přesné rozšíření není dodnes známé (BURIÁNEK et al. 2014).

5 Využití břízy v lesnictví

5.1 Pionýrské dřeviny v hospodářském lese

Pionýrské dřeviny plní v hospodářských lesích mnoho důležitých funkcí. První funkci zastávají jako přípravné porosty, kde jsou důležitou fází při druhotné sukcesi po velkých přírodních kalamitách. Díky většinovému pozitivnímu vlivu na půdu a relativní odolnosti proti větru zastávají meliorační i zpevňující funkci. Zároveň pionýrské dřeviny umožňují zvýšit a zkvalitnit produkci dříví. Význam pionýrských dřevin se zvyšuje při obnově po kalamitních holinách (KOŠULIČ 2019).

5.2 Přípravné porosty

Přípravné porosty zajišťují vhodné podmínky pro obnovu lesa po vzniku holin. Snižují extrémní mikroklimatu na holinách, zvyšují vzdušnou vlhkost a snižují proudění vzduchu. Zlepšují půdní vlastnosti opadem listí

a prokořeňováním půdy. Zvyšují biodiverzitu, přispívají k pevnosti a vyšší kvalitě dřeva cílových podúrovňových dřevin, vytvářejí přirozené prostředí pro růst cílových klimaxových dřevin. Přípravné porosty tlumí růst cílových dřevin v podúrovni a tím vytvářejí výškovou, tloušťkovou a případně i věkovou diferenciaci, čímž zvyšují odolnost proti větru a mohou snížit škody v případě extrémních větrů (KOŠULIČ 2019).

HURT et MAUER (2016) ve své práci uvádějí způsoby podsadby přípravných porostů břízy bělokoré bukem lesním a jedlí bělokorou. Podsadby porostů přípravných dřevin mají stanovištně a ekologicky žádoucí podmínky a jejich využitelnost se vztahuje k velkému rozsahu ekologických podmínek, porostních typů a hospodářských tvarů nacházejících se v lesích České republiky. Důvodem pro přestavbu či transformaci přípravných porostů je vytvoření vhodných podmínek pro odrůstání klimaxových dřevin, které se těmito dřevinami podsazují. Způsobem založení a pěstováním přípravných porostů a postupnou přeměnou podsadbami je možné docílit třech cílových stavů porostu – ekologicky a staticky stabilního smíšeného porostu, stanovištně odpovídající stabilní monokultury a monokultury, která vyhovuje zejména hospodářskému hledisku, kde vlastník považuje krajní limity dřeviny za přijatelné riziko.

5.3 Porosty náhradních dřevin

Utváření a členitost kmene ovlivňuje stabilitu stromů vůči mechanickému poškození mrazem. Stabilitu porostů můžeme ovlivnit odpovídajícími výchovnými zásahy (KULA 2002). S výchovou a přeměnami březových porostů náhradních dřevin je dobré začít poté, co splní svou funkci, tedy vytvoří příznivé podmínky pro cílové dřeviny. Ideální doba pro začátek výchovy je doba, kdy se začínají porosty zapojovat. Doba zapojení nastává u většiny stanovišť v průběhu druhého věkového stupně. Vhodné jsou selektivní, úrovňové zásahy s negativním výběrem, které lze začít provádět tehdy, pokud dosáhne sdružený porost přinejmenším zakmenění 0,8. Pokud klesne zakmenění pod 0,8, není vhodné provádět úrovňové zásahy, mohly by vést k urychlení rozpadu porostu. Podúrovňové zásahy jsou zbytečné, pokud je není nutné provádět za účelem zdravotního stavu, např. zamezení šíření škůdců,

nebo nejsou součástí dalších postupů při přeměnách porostů. V těchto porostech je přípustné udržovat bezzásahový režim. Výchova porostů se liší podle procentuálního zastoupení břízy v porostech, stanovištních a klimatických podmínek a také imisní zátěže (SLODIČÁK et NOVÁK 2008).

5.3.1 Březové porosty v Krušných horách

Oblast Krušných hor byla po celou dobu druhé poloviny 20. stol. vystavena imisní zátěži, vliv imisí vyvrcholil v roce 1984 (HRDLIČKA et KULA 2002). V imisně silně poškozené oblasti Krušných hor vznikly porosty náhradních dřevin (PND) v 70. a 80. letech minulého století na místech, kde bylo nemožné nahradit rozpadající se smrkové monokultury vhodnými cílovými dřevinami (SLODIČÁK et NOVÁK 2008). Porosty smrku odumírali nejen kvůli vlivu imisí, ale také kvůli nepříznivým klimatickým podmínkám (BEDNÁŘOVÁ 2002). Odumírající porosty se nahradily PND, které v oblasti Krušných hor tvoří 41 060 ha, tj. přibližně třetina výměry lesů. Převážně jsou tvořeny břízou (12,4 tis. ha), smrkem pichlavým (8,9 tis. ha), modřínem (6,6 tis. ha), jeřábem (3,1 tis. ha) a dalšími náhradními dřevinami (ÚHUL 2007). Bříza, dominantní dřevina PND, která je v Krušných horách původní, byla na holiny vysazována a vysévána od začátku imisní kalamity, přičemž osivo bylo z velké části neznámého původu (KULA 2002). Na daném území je rod bříza (*Betula*) zastoupen třemi druhy – v největším počtu břízou bělokorou (*Betula pendula* Roth.), břízou pýřitou (*Betula pubescens* Ehrh.) a břízou karpatskou (*Betula carpatica* W. et K.) a také jejich samovolnými kříženci (SLODIČÁK et NOVÁK 2008).

Vznik rozsáhlých březových monokultur ukázal po dvaceti letech nejenom přednosti této náhradní dřeviny, ale také zranitelnost ze strany působení škodlivých biotických, abiotických i antropogenních činitelů. Větší poškození hmyzími škůdci nastalo v letech 1980–1983 způsobené píďalkou zhoubnou (*Erannis defoliaria*) a píďalkou podzimní (*Operophtera brumata*), porosty byly napadeny v rozpětí 900–3 800 ha ročně. Dalším škůdcem v mladých březových porostech byl v letech 1985–1987 bázlivec vrbový (*Lochmaea caprea*), jehož housenky poškozují listy žírem, ročně bylo poškozeno 500–1500 ha. V obou případech bylo nutné ošetření

porostů letecky. Mezi lety 1996–1997 se zvýšil počet minovačů rodu *Eriocrania*, kteří způsobili jarní žíry a následnou defoliaci břízy. Byla zjištěna přítomnost širokého spektra housenek motýlů, kteří se nachází v korunách stromů a představují potenciální nebezpečí namnožení některého z druhů v oblastech s vysokým zastoupením bříz.

Dalšími biotickými patogeny jsou listové skvrnitosti typu *Discula* a *Phyllactinia*, které napadají především porosty bříz vyšších poloh, velký rozvoj se objevil v letech 1999 a 2001. Dále také listové rzi, v roce 2001 se rozšířila ve středních polohách rez březová (*Melampsorium betulinum* (Pers.) Kleb.). Způsobují předčasný opad listů a snižují asimilaci, aplikace dostupných fungicidů byla jen málo účinná (KULA 2002).

Zákon č. 309/1991 Sb. stanovil emisní limity, které musely být sníženy do roku 1998. I přesto, že se imisní hodnoty v 90. letech snižovaly, oslabené ekosystémy měly sníženou stabilitu, což se spolu s vlivem abiotických činitelů projevilo vysokým poškozením smrkových porostů na přelomu let 1995/1996 a březových porostů v roce 1997 (HRDLIČKA et KULA 2002). V roce 1997 došlo na východě Krušnohoří k nevyrašení břízy na území 14 tis. ha, takový úkaz doposud nebyl v Evropě zaznamenán. Postihnuté břízy vytvářely olistěné letorosty z náhradních pupenů až v pozdním létě, letorosty byly nedostatečně vyztřelé a poté v zimním období vymrzly. Stres byl prohlouben také silným vyčerpáním kořenů, dlouhodobě omezenou tvorbou asimilátů, působením václavky na kořenech, vznikem mrazových kýl a poškozením bazálních pletiv. Do roku 2000 došlo k uhynutí porostů břízy asi na 45 % z redukované plochy 5 428 ha. Nejvýraznější škody vznikly v nadmořské výšce 550–650 m n. m., v nižších polohách byly zasaženy porosty s nižším zakmeněním. Škody vznikly ve všech věkových třídách, ale nejvíce byly zasaženy porosty třetí věkové třídy (KULA 2002).

Od roku 1997 se prováděl na zasažených plochách Krušných hor a referenčních oblastí výzkum stavu asimilačního aparátu břízy. Zkoumané plochy se nacházely ve stejných nadmořských výškách, kde se testovaly tři druhy bříz; bříza bělokorá, bříza pýřitá i bříza karpatská. Metoda se zaměřovala na studium změny epikutikulárních vosků (BEDNÁŘOVÁ 2002). Epikutikulární vosk se

nachází na povrchu listů všech vyšších rostlin a poskytuje ochranou bariéru před vlivem vnějšího prostředí pronikat na listovou plochu. Epikutikulární vosky zvyšují odolnost vůči znečištěnému ovzduší, ochraňují listové buňky před intenzitou světla, teplotami, fyzickým poškozením, osmotickým stresem a vlivem nadmořské výšky (SHEPHERD et GRIFFITHS 2006). Imise velice značně působí na strukturu listu, dochází ke změně tvaru listu, způsobují pokles vosků na povrchu listů a změnu struktury epikutikulárních vosků. Množství a struktura epikutikulárních vosků se liší podle druhu, hodnoty jsou dány geneticky. Druhy, které mají silnou vrstvu vosků jsou odolnější vůči vlivu imisí.

Z výsledků několikaleté studie vyplývají poznatky o odlišné reakci druhů bříz na imisní zatížení. Bříza bělokorá (*Betula pendula* Roth.) reagovala velice citlivě na zvýšené množství emisí, kdy došlo k poničení struktury i snížení množství epikutikulárních vosků, a to následně ovlivnilo také další ekofyziologické faktory. Zatímco u břízy pýřité (*Betula pubescens* Ehrh.) i břízy karpatské (*Betula carpatica* W. et K.) se zaznamenal vyšší počet epikutikulárních vosků po celou dobu zkoumání, kdy se jeho hodnota v podstatě neměnila v závislosti na zvýšeném množství emisí, což dokazuje vyšší odolnost vůči emisnímu znečištění. Z výsledků studie vyplývá, že bříza karpatská i bříza pýřitá jsou odolnější vůči emisím, a také vůči nepříznivým klimatickým podmínkám než bříza pýřitá, jejich využití do vyšších poloh Krušných hor je tedy vhodnější (BEDNÁŘOVÁ 2002).

5.4 Využití a vlastnosti dřeva břízy

Dřevo břízy se podle své struktury řadí mezi listnaté dřeviny s roztroušeně pórovitou stavbou dřeva, póry nejsou okem viditelné. Řadí se mezi dřeviny bělové, nevytváří pravé jádro. Letokruhy jsou poměrně široké a málo zřetelné. Často se vyskytují dřevné skvrny. Textura dřeva je jemná, jednoduchá, s rovnými vlákny a nevýraznou kresbou. Existují i formy břízy, které mají výraznou dekorativní kresbu, jsou cíleně vyhledávané a náležitě oceněny, může se jednat o tzv. „karelskou břízu“, u nás nazývanou jako „finská bříza“ (ZEIDLER 2010).

Březové dřevo se z pohledu zpracování řadí mezi polotvrdou listnatou dřevinu s relativně dobrými mechanickými vlastnostmi, to nabízí široké možnosti

použití v dřevozpracujícím průmyslu. V dřevozpracujícím průmyslu se nejčastěji používá pro výrobu překližky a dýhy, dále se hojně používá v nábytkářství i přes to, že má nevýraznou kresbu. I přes možnosti dalšího využití je nejčastěji březové dřevo používáno jako palivo, a to i v případě dostačujících dimenzí pro výnosnější zpracování. Palivo z březového dřeva je považováno za velmi dobré.

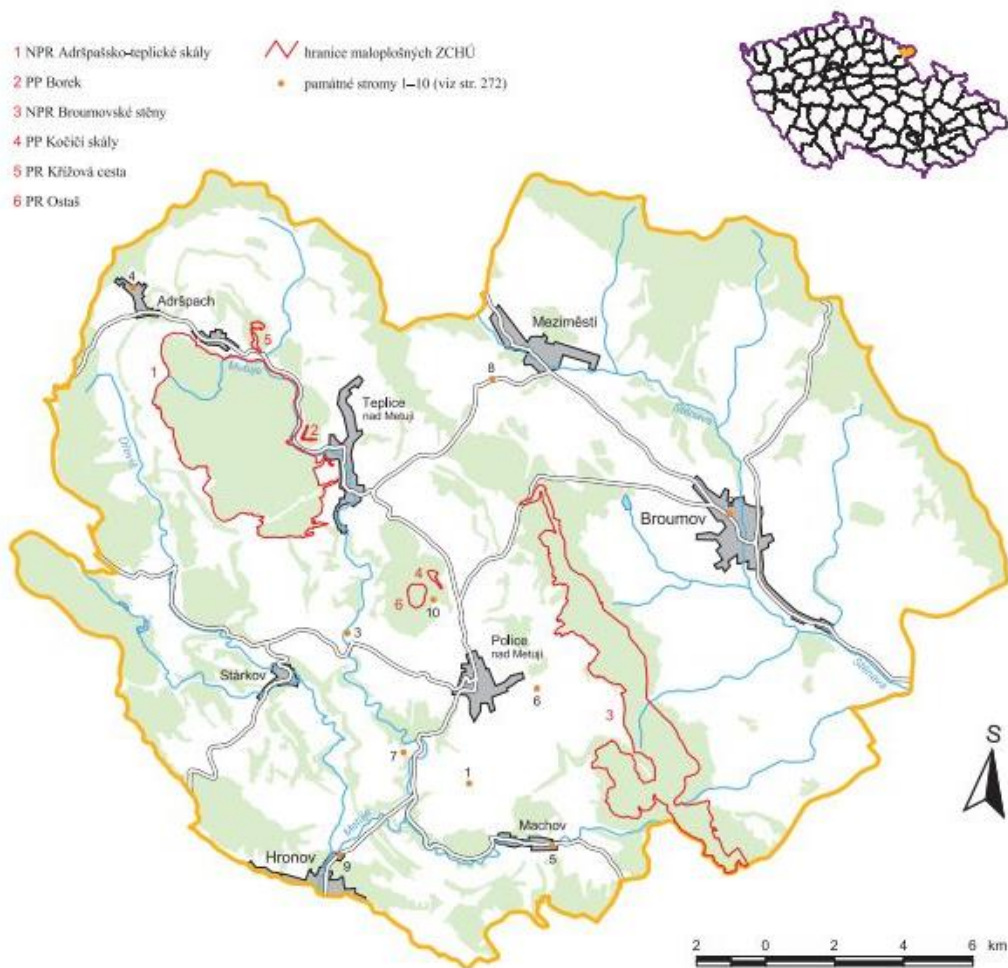
V minulosti bylo dřevo břízy hojně využíváno nejenom kvůli dobrým mechanickým vlastnostem, ale také jeho dostupnosti. V současné době využívají potenciálu dřeva břízy hlavně severoevropské státy a Rusko, kde je podíl zastoupení břízy značně vyšší. Ve Finsku je značně rozvinutý překližkárenský průmysl. Švédská firma IKEA je celosvětovou značkou a ovlivňuje trendy v nábytkářství, jako jedna z prvních uvedla na trh dýhovaný, překližkový a masivní nábytek z březového dřeva, čímž přispěla k jeho oblibě a většímu využití (REISNER et ZEIDLER 2010; ZEIDLER 2010).

6 Metodika

6.1 Popis lokality – CHKO Broumovsko

Chráněná krajinná oblast (CHKO) Broumovsko byla založena vyhláškou (č. 157/1991 Sb.) ministerstva životního prostředí v roce 1991 na rozloze 410 km². Nachází se v Královehradeckém hraji, rozprostírá se na celém území Broumovského výběžku, východním okraji okresu Trutnov a severní části okresu Náchod, viz Obr. 4.

Na území CHKO Broumovsko najdeme dvě národní přírodní rezervace (NPR): Broumovské stěny a Adršpašsko–Teplické skály, které patří k největším skalním městům ve střední Evropě, rozprostírající se na ploše 17 km². Obě rezervace jsou výjimečné svým klimatem a reliéfem, což umožňuje výskyt ojedinělých druhů. Několik přírodních rezervací (PR): Stolovou horu Ostaš, Křížovou cestu s reliktními bory, nebo staré bučiny Farní stráně. Dále přírodní památky (PP) Mořská transgrese, Pískovcové sloupky u České Metuje, nebo menší skalní území Kočičí skály a Borek.



Obr. 4 – CHKO Broumovsko v rámci ČR, vyznačené NPR, PR a PP [Zdroj: FALTYSOVÁ et al. 2002].

Zájmové území je rozděleno do 4 zón podle míry ochrany a přírodních hodnot. Nejcennější je I. oblast, která zaujímá cca desetinu celkového území a zahrnuje především pískovcové skalní oblasti, údolní nivy a zbytky přírodě blízkých lesů. Největší část zabírají III. a IV. zóna, téměř tři čtvrtiny, které jsou tvořeny zemědělskými pozemky, sídly a lesy s různou druhovou skladbou (BERANOVÁ et al. 2008).

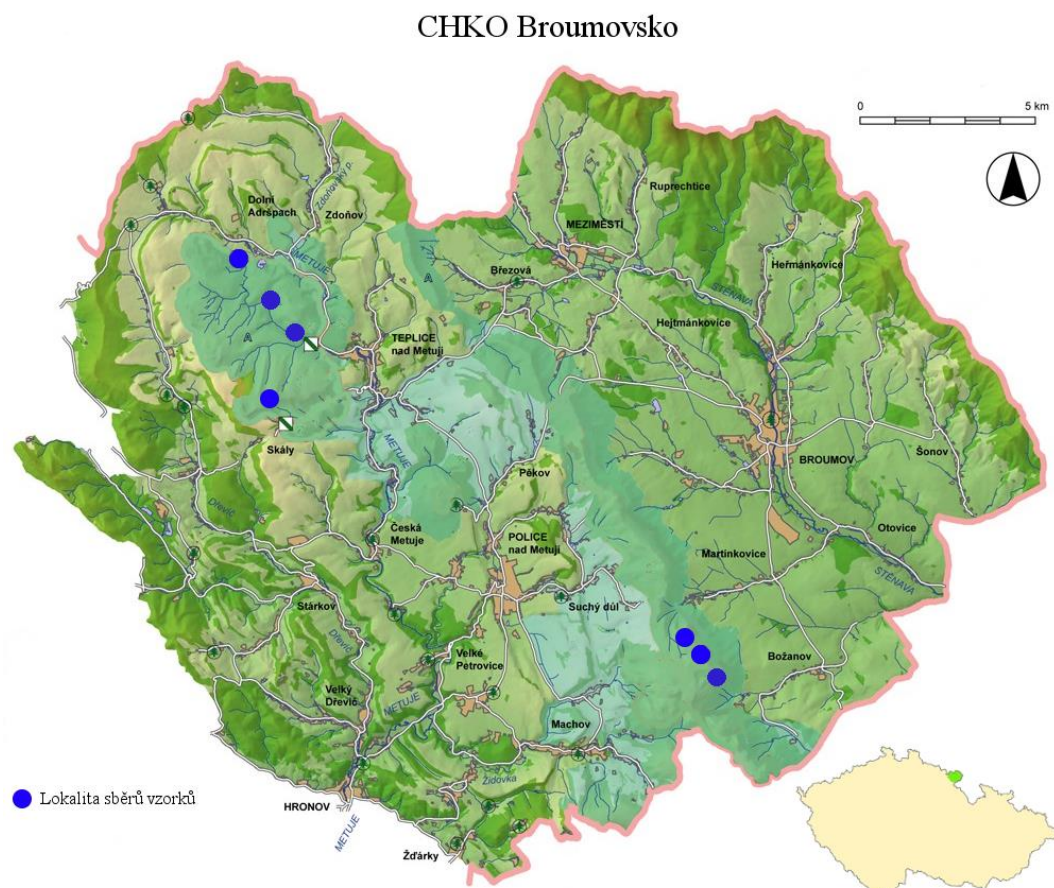
V roce 2005 byla v CHKO Broumovsko vyhlášena ptačí oblast, která je zařazena do soustavy NATURA 2000. Ta zaujímá oblast Adršpaško–Teplických skal, Broumovské stěny a další skalní oblasti. Na zmíněných lokalitách se vyskytují celoevropsky chráněné druhy ptáků. Výr velký (*Bubo bubo*) a sokol stěhovavý (*Falco peregrinus*) (SPRÁVA CHKO BROUMOVSKO 2012).

Původní druhovou skladbu tvořily jedle a buky s příměsí smrku, v dnešní době tvoří smrky až 74 %, cílem v dané oblasti je navrácení k původní druhové skladbě a obnovení vhodného prostředí pro vzácné druhy (BERANOVÁ et al. 2008).

6.2 Sběr dat

Sběr vzorků se uskutečnil v červenci v roce 2010 a o další jedince byl doplněn v roce 2017. Celkem byly odebrány vzorky 54 jedinců, viz Tab. 2.

Sběr probíhal v 7 zájmových lokalitách na Broumovsku. Jedinci byli vybíráni s ohledem na to, aby došlo k pokrytí co největší části dané oblasti. Na Obr. 5 vidíme rozmístění vybraných lokalit na území CHKO Broumovsko.



Obr. 5 – Lokality sběru vzorků v oblasti CHKO Broumovsko.

Tab. 2 – počty jedinců na vybraných lokalitách

Lokalita	Počet jedinců		
	Diploidní (2n)	Tetraploidní (4n)	Celkem
Pod Korunou	0	7	7
Zelený hájek	2	8	10
Čapí vrch	7	0	7
Koruna	2	2	4
Vlčí rokle	0	7	7
Teplická ozvěna	4	7	11
Teplické skály	6	2	8
Σ	21	33	54

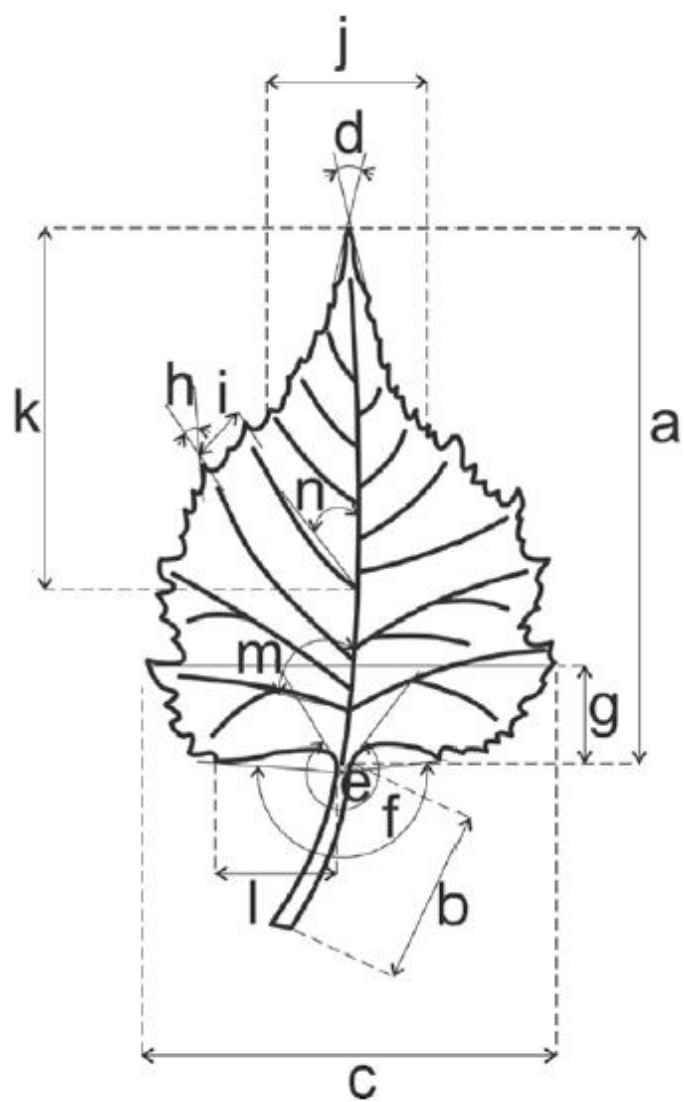
Z každého jedince byly odebrány teleskopickými nůžkami 2 letorosty pro měření listových parametrů a dostatečné množství materiálu pro průtokovou cytometrii a genetické analýzy.

Letorosty byly herbářovány a označeny jedinečným kódem pro měření listových parametrů. Materiál pro cytometrii byl uchován v chladícím boxu a následně odeslán do laboratoře pro určení ploidie. Zbylý materiál použit pro analýzu mikrosatelitů, viz dále.

6.3 Měření listových parametrů

Pro účely statistické analýzy byly z herbářovaných vzorků měřeny vždy dva listy z jednoho letorostu. Z každého jedince se tedy měřily 4 listy, ty byly označeny na rubové straně fixem a uchovány pro další případné analýzy. Veškerá měření probíhala na levé rubové straně listů tzv. klasickou morfometrikou, tedy dostupnými kancelářskými pomůckami, jako je trojúhelníkové pravítko a úhломěr.

Na každém listu bylo měřeno 16 kvantitativních znaků, ty byly vybrány s ohledem na již dříve publikované práce zabývající se touto tematikou (EŠNEROVÁ et al. 2012, GILL et DAVY 1983, GARDINER et JEFFERS 1962). Měřené parametry viz Tab. 3, Obr. 6. Touto problematikou se již zabývala bakalářská práce, výsledky jsou stručně shrnuty dále.



Obr. 6 – Vybrané parametry měřené na listech bříz, označení a-n odpovídá Tab. 3 [Zdroj: EŠNEROVÁ et al. 2012].

Tab. 3 – kvantitativní délkové a úhlové parametry měřené na listech bříz

Parametr	Jednotky	Označení (Obr. 5)
Délka čepele	mm	a
Délka řapíku	mm	b
Šířka čepele	mm	c
Úhel špičky listu	°	d
Úhel nasazení báze listu	°	e
Úhel báze listu	°	f
Vzdálenost nejširšího místa od báze čepele	mm	g
Úhel vroubení listu	°	h
Vzdálenost 3. a 4. žilky	mm	i
Šířka čepele v 1/4 listu (od špičky)	mm	j
Vzdálenost 4. žilky od špičky čepele	mm	k
Vzdálenost 1. zubu od báze čepele	mm	l
Úhel 1. žilky	°	m
Úhel 4. žilky	°	n
Počet zubů mezi zakončením 3. a 4. žilky	—	x
Počet postranních žilek	—	y

6.4 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie je luminiscenční metoda analýzy buněčných parametrů na výzkum rostlinných, živočišných i lidských buněk (NOVÁK et al. 2008). Principem je vzájemné působení analyzovaných částic transportovaných tenkou tryskou s elektromagnetickým vlněním vyzařovaným UV lampou, nebo laserem. Průtokový cytometr obsahuje optický systém, který měří odražené světlo, systém fluidiky, který do měřicí komory dopravuje analyzované částice a sortovací systém, který umožňuje vytřídění cílových populací (NOVÁK 2010).

V této práci byla průtoková cytometrie použita pro účely determinace velikosti genomu odebraných vzorků bříz. Velikost genomu obecně odpovídá fylogenetické vzdálenosti mezi druhy (KARLÍK et al. 2010).

6.5 Statistická analýza dat

Statistickou analýzu morfometrických odebraných vzorků diploidních a tetraploidních jedinců rodu bříza blíže popisuje bakalářská práce. V té byla taktéž ověřován spolehlivost třech klasifikačních funkcí pro rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců. Klasifikační funkce byly vybrány z již publikovaných prací (LINDA et al. 2017, ATKINSON et CODLING 1986, EŠNEROVÁ et al. 2012). Úspěšnost každé z těchto funkcí byla vypočítána jako podíl počtu správně zařazených jedinců a celkového počtu jedinců vynásobený stem. Výsledky procentuální úspěšnosti jednotlivých funkcí jsou porovnány v Tab. 4.

Analýza rozdílů ve velikosti genomu byla provedena pomocí porovnání tzv. 1Cx hodnot (tj. celková velikost genomu v pg/počet sad chromozomů jedince). Porovnání těchto hodnot mezi vylišenými taxony bylo provedeno pomocí Kruskal-Wallisova testu (požadavek normality dat pro použití parametrického testu nebyl splněn, testováno pomocí Shapiro-Wilkova testu). Mnohonásobná porovnání byla provedena metodou dle SIEGALA et CASTELLANA (1988).

Jako první popisná statistika byla vypočítána proporce sdílených alel mezi diploidními a tetraploidními jedinci.

Analýza genetické variability mezi vzorkovanými jedinci byla provedena v software STRUCTURE (HUBISZ et al. 2009). Nejprve byl odhadnut nejpravděpodobnější počet skupin zvláště pro diploidy a tetraploidy pomocí software STRUCTURE HARVESTER (EARL et VONHOLDT 2012), data byla následně analyzována pomocí software CLUMPP (JAKOBSSON et ROSENBERG 2007). Výsledky analýzy jsou zobrazeny ve formě grafu zkonstruovaného v software DISTRICT (ROSENBERG 2004).

Pro diploidy byly zpracovány analýzy pro teoretický počet skupin v datasetu (K) 1–6, pro tetraploidy 1–5. Při každém „běhu“ byl nastaven iniciální počet neanalyzovaných iterací (tzv. burn-in) na 100 000 následovaným dalšími 100 000 iteracemi. Ostatní parametry byly ponechány ve výchozím nastavení.

Pro vizualizaci genetických vzdáleností v celém datovém souboru byla použita analýza hlavních koordinát (PCoA). Genetické vzdálenosti mezi jedinci byly vypočítány dle publikace BRUVO et al. (2004).

Veškeré analýzy vyjma analýz v software STRUCTURE a jim příbuzných byly provedeny ve statistickém prostředí R (R CORE TEAM 2020).

6.6 Izolace DNA a analýza mikrosatelitů

Izolace DNA ze vzorků skladovaných v mrazícím boxu (-80 °C) byla provedena pomocí izolačního kitu QUIAGEN DNEasy Plant Mini Kit dle přiloženého návodu. Kvalita izolované DNA byla kontrolována pomocí spektrofotometru a před následujícími procedurami byla izolovaná DNA zředěna na koncentraci 10 ng/μl.

PCR reakce byla provedena v celkovém objemu 20 μl ve složení: 15 ng DNA, primery (viz dále; 0,25 μM každého primeru), 200 μM dNTP, 2,5 mM MgCl₂ a bufferu PCR multiplex mix s polymerázou (ThermoFisher Scientific).

Pro analýzu bylo celkem bylo stejně jako v předchozí studii (KUNEŠ et al. 2019) vybráno 12 polymorfních lokusů (KULJU et al. 2004, TSUDA et al. 2009). Analýza mikrosatelitních délek byla provedena pomocí sekvenátoru (Genetic Analyser 3500, Applied Biosystems).

První PCR program (KULJU et al. 2004) byl nastaven následovně: iniciální krok (5 minut, 95 °C), následně cyklus (30 ×) – denaturace (95 °C, 60 sekund), annealing (57 °C, 75 sekund), elongace (72 °C, 150 sekund), následovaný finální elongací (72 °C, 10 minut).

Druhý PCR program dle TSUDA et al. (2009) byl nastaven následovně: 30 × – denaturace (95 °C, 30 sekund), annealing (55 °C, 30 sekund), elongace (72 °C, 45 sekund), následovaný finální elongací (72 °C, 7 minut).

Data získaná z genetického sekvenátoru byla analyzována pomocí software GeneMarker 1.80 (SoftGenetics).

7 Výsledky

7.1 Shrnutí výsledků morformetrických analýz

Analýza kvantitativních dat pro zjištění odlišnosti mezi diploidními a tetraploidními jedinci byla provedena pro 16 parametrů, statistická významnost vyšla u 10 parametrů. Pro diploidy se ukázaly tři parametry statisticky nejvýznamnější (hladina významnosti $\alpha = 0,001$), a to větší délka řapíku, vzdálenost a počet mezi 3. a 4. žilkou. Více informací o analýze morfometrických parametrů poskytuje předchozí bakalářská práce (ZAMASTILOVÁ 2018).

Spolehlivost klasifikační funkce na data z této práce byla porovnávána u třech již publikovaných klasifikačních funkcí (ATKINSON et CODLING 1986, LINDA et al. 2017, EŠNEROVÁ et al. 2012). Úspěšnost funkcí viz Tab. 4.

Tab. 4 – porovnání spolehlivosti třech vybraných klasifikačních funkcí

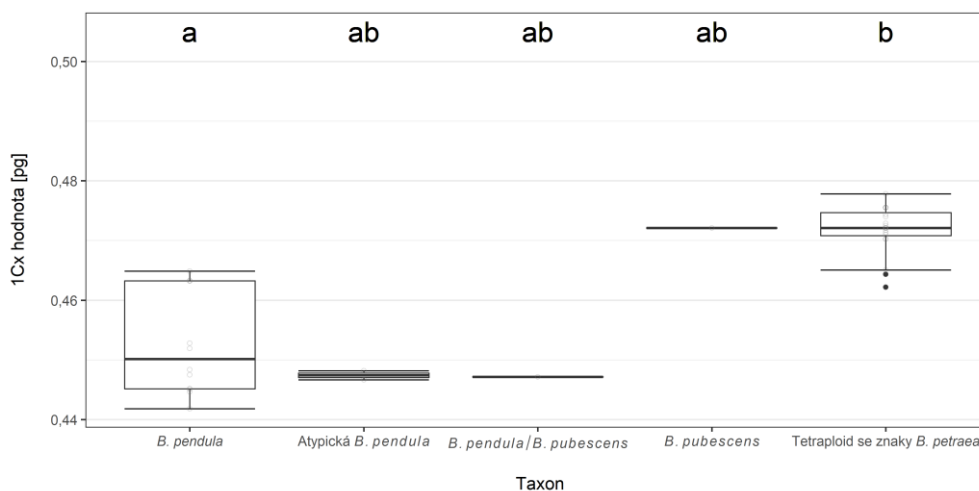
Úspěšnost klasifikačních funkcí v oblasti Broumova			
LINDA et al.	ATKINSON et CODLING	EŠNEROVÁ et al.	Počet vzorků
73 %	81 %	73 %	120

Pro determinaci ploidie na zkoumaných datech z území Broumova vyšla jako nejúspěšnější klasifikační funkce dle ATKINSONA et CODLINGA (1986); správné určení ploidie bylo zaznamenáno v 81 % případů.

7.2 Analýza velikosti genomu

Analýza velikosti genomu (resp. „1Cx hodnot“, GREILHUBER et al. 2005) ukázala na statisticky významné rozdíly mezi *B. pendula* a tetraploidy se znaky *B. petraea* (Kruskal-Wallisův test, Chí-kvadrát = 24,16; df = 4, p<0,001). Obecně lze říci, že u tetraploidů byla tato 1Cx hodnota pozorována vyšší než u diploidů, nicméně jasný závěr nelze v případě *B. pubescens* udělat z důvodu nedostatečného počtu vzorků. Pro testování byl použit Kruskal-Wallisův test z důvodu nesplnění požadavku normality v každé skupině testovaných dat (např. pro *B. pendula* W = 0,85, p = 0,03).

Tab. 5 – znázornění analýzy velikosti genomu: rozdělení hodnot 1 Cx, spodní vous značí nejnižší pozorování vyšší nebo rovno spodnímu kvartilu (tj. spodní okraj krabice) – 1,5* mezikvartilové rozpětí



7.3 Molekulární analýzy

Nejprve byl vypočítán podíl sdílených alel mezi diploidy a tetraploidy, abychom zjistili, zda jsou zkoumané tetraploidní taxony autopolyploidního nebo alopolyloidního původu. Celkem bylo zaznamenáno 113 alel, z nichž 55 (48,6 %) bylo sdíleno mezi diploidními a tetraploidními taxony.

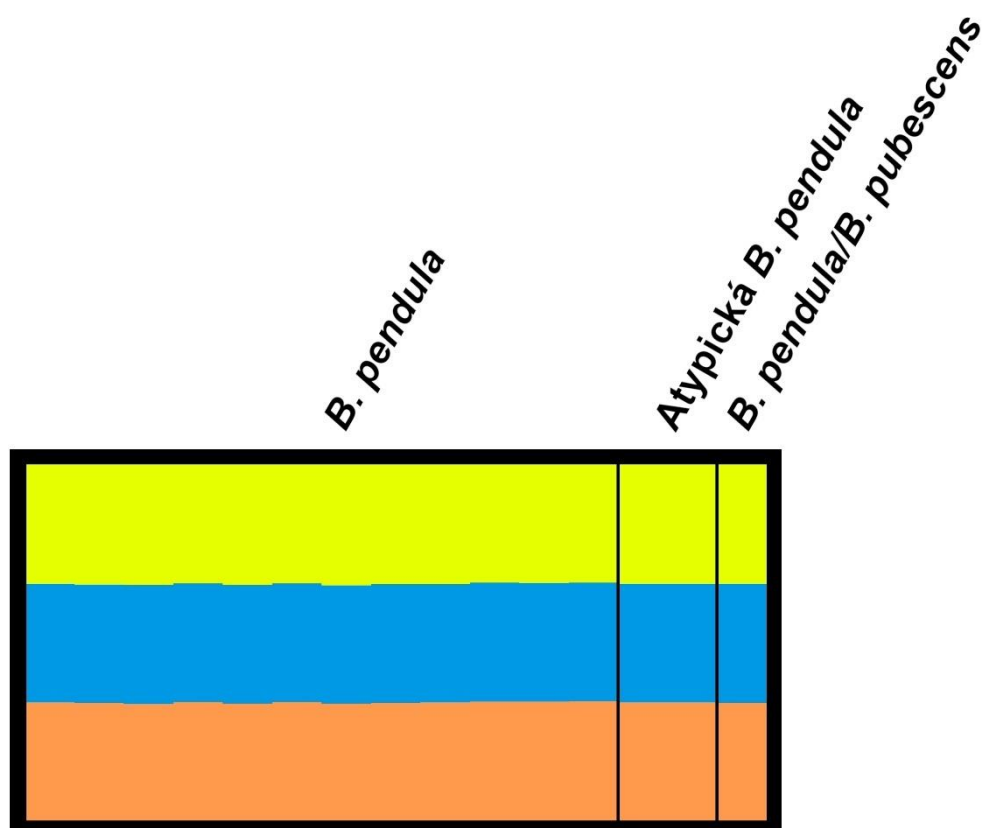
Tab. 6 – počet sdílených alel mezi tetraploidními a diploidními jedinci na dvanácti mikrosatelitních lokusech

Lokus	Počet sdílených alel	Počet alel celkem
LocL31	4	9
LocL54	8	12
LocL78	0	6
LocL022	4	12
LocL71	5	10
LocBema7	5	6
L012	3	12
Bema1	3	5
Bema11	3	7
L27	9	15
Bep13	5	10
L34	6	9
SUMA	55	113

7.3.1 Shlukové analýzy

Nejpravděpodobnější počet skupin v datech pro diploidy i tetraploidy byl odhadnut pomocí programu STRUCTURE HARVESTER dle metody EVANNO et al. (2005).

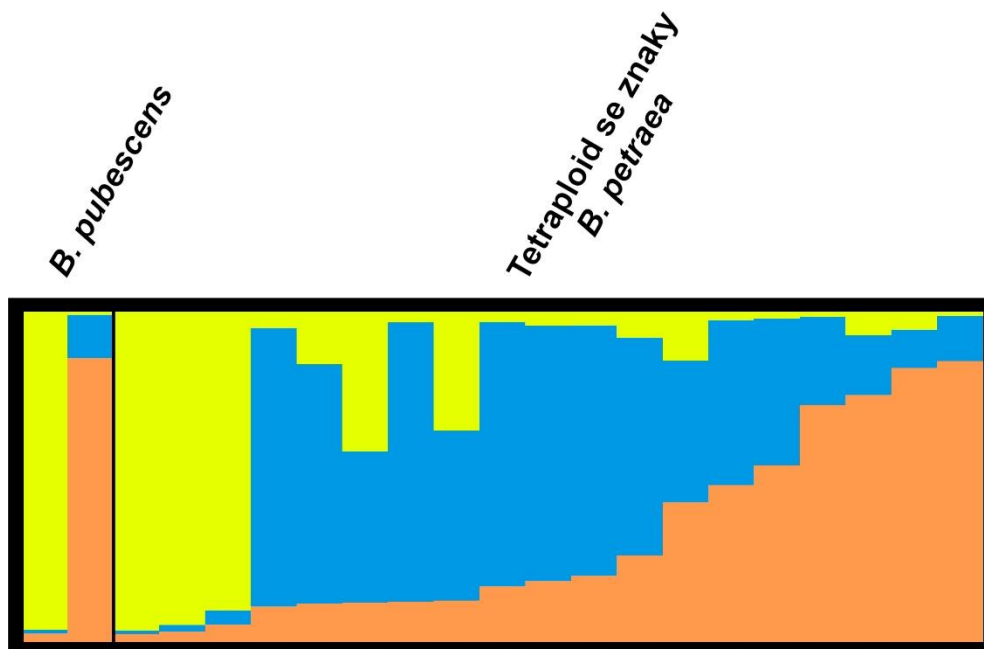
Nejpravděpodobnějším řešením pro diploidy i tetraploidy měly být tři klastry (viz přílohy). Výsledek shlukové analýzy pro diploidní jedince viz Obr. 7.



Obr. 7 – Výsledek shlukové analýzy u diploidních jedinců rodu *Betula*. Každý sloupec značí jednoho jedince, poměr barev ve sloupci značí poměr pravděpodobnosti příslušnosti k dané „skupině“ v datech.

V rámci diploidních jedinců byla pozorována jen minimální (až téměř nulová) genetická variabilita a všichni diploidní jedinci tak tvoří i přes rozdíly v morfologii jedinců kompaktní genetickou skupinu.

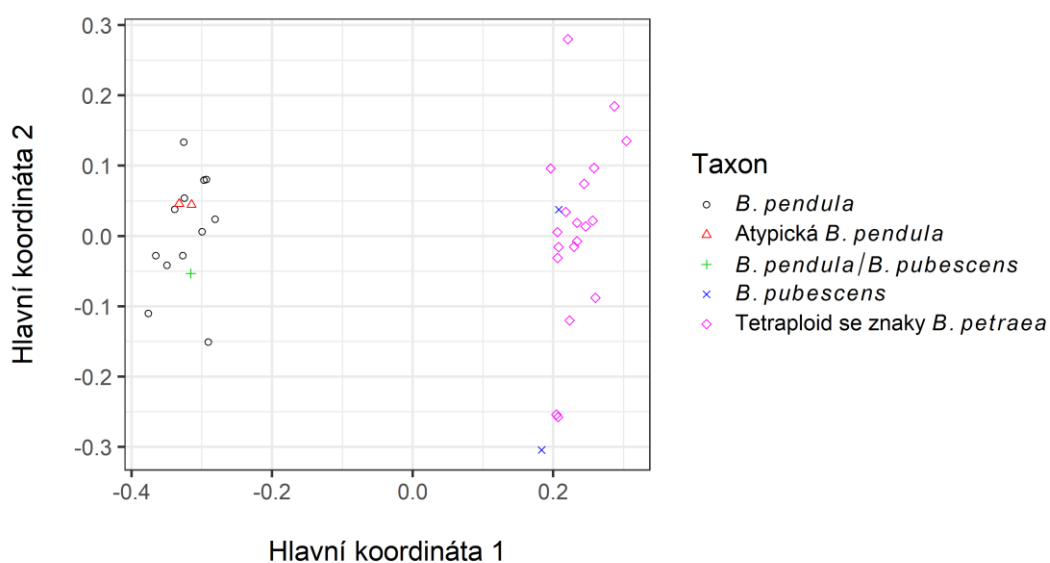
V případě tetraploidních jedinců byla naopak pozorována relativně vysoká populační variabilita, a to v rámci obou identifikovaných taxonů (*B. pubescens*, „*B. petraea*“). Výsledky analýzy tetraploidů však současně ukázaly směs skupinových přiřazení pro všechny taxony, což naznačuje, že všechny vzorky patří technicky do jedné homogenní skupiny (jednoho „druhu“, který je však značně variabilní).



Obr. 8 – Výsledek shlukové analýzy u tetraploidních jedinců rodu *Betula*. Každý sloupec značí jednoho jedince, poměr barev ve sloupci značí poměr pravděpodobnosti příslušnosti k dané „skupině“ v datech.

7.3.2 Analýza hlavních koordinát

Pro vizualizaci genetických vzdáleností mezi všemi vzorkovanými jedinci, bez ohledu na jejich ploidií, byla provedena analýza hlavních koordinát, viz Obr. 9. Jako měřítko genetické vzdálenosti mezi jedinci byly zvoleny genetické vzdálenosti dle BRUVO et al. (2004).



Obr. 9 – Analýza hlavních koordinát (PCoA) genetických vzdáleností rodu *Betula*, diploidi vlevo (černá, červená, zelená), triploidi vpravo (modrá, růžová).

U diploidů byli identifikováni dva jedinci s některými atypickými znaky pro *B. pendula* (označen „Atypická *B. pendula*“ a „*B. pendula/B. pubescens*“), kteří měli některé znaky tetraploidních taxonů rodu bříza, nicméně geneticky se od *B. pendula* s největší pravděpodobností neliší.

Mezi tetraploidy byla pozorována relativně vysoká populační variabilita. Pozoruhodný je jeden vzorek, který vykazuje znaky „čisté“ *B. pubescens*, avšak od ostatních tetraploidních jedinců se mírně odlišuje.

8 Diskuze

Cílem této práce bylo zrekapitulovat morfoložickou variabilitu a zhodnotit genetickou variabilitu diploidních a tetraploidních bříz na Broumovsku s ohledem na akvizici reprodukčního materiálu lesních dřevin. Kvůli vysoké mezidruhové variabilitě je v praxi velmi obtížné určit ploidii a zařadit jedince do správného taxonu. Pomocí průtokové cytometrie, či analýzy mikrosatelitních oblastí jader DNA lze ploidii rozlišit i na úrovni menších taxonů, tyto metody jsou však nákladné a v praxi nepoužitelné. Proto byly navrženy metody rozlišující ploidii na základě měření morfoložických parametrů na listech (EŠNEROVÁ et al. 2012, LINDA et al. 2017, ATKINSON et CODLING 1986) a také úroveň spolehlivosti klasifikačních funkcí. Ta dosahuje v práci EŠNEROVÉ et al. (2012) až 100 % na datech z oblasti Krkonoš. Nejúspěšnější ze tří klasifikačních funkcí použitých na datech v této práci byla dle ATKINSONA et CODLINGA (1986), která vykazovala spolehlivost 81 %. Tyto morfometrické studie dokáží s relativně vysokou přesností odlišit diploidní a tetraploidní druhy, nejsou však schopny rozlišit menší tetraploidní taxony.

Základní velikost genomu odhadnutá pomocí průtokové cytometrie ukázala na statisticky významné rozdíly mezi *B. pendula* a tetraploidy se znaky *B. petraea*. U tetraploidů byla obecně hodnota 1Cx pozorována vyšší než u diploidů, nicméně u *B. pubescens* nelze říct jasný závěr z důvodu nedostatečného počtu vzorků. KUNEŠ et al. (2019) ve své práci uvádí, že rozdíly mezi posuzovanými taxony nejsou velké. Tetraploidi *B. pubescens* a *B. petraea* vykazují zanedbatelné rozdíly v průměrných hodnotách 1 Cx, a to 1,1 %, stejně tak *B. carpatica* a *B. pubescens*, ty mají rozdíl 1,5 % v průměrných hodnotách. Rozdíly v hodnotách mezi *B. pubescens*, *B. petraea* a *B. carpatica* by mohly naznačovat určitý stupeň přizpůsobení se podmínkám prostředí, jelikož tetraploidní břízy z vyšších nadmořských výšek a chladnějšího podnebí mají tendenci mít o něco větší základní velikost genomu. Nelze však brát v potaz koncepci *B. petraea* (a pravděpodobně

i *B. carpatica*, jak vyplývá z jiných zdrojů) (KUNEŠ et al. 2019) jako oddělených druhů od *B. pubescens* na základě tohoto výzkumu.

Tetraploidní břízy vyskytující se na území Broumovska jsou pravděpodobně alopolyploidního původu. Alopolyploidní druhy vznikají křížením dvou druhů, které jsou více či méně příbuzné (SKALICKÁ 2005). Proporce sdílených alel je téměř 50 %, tzn. že tetraploidi nevznikli přímo polyploidizací *B. pendula*, ale pravděpodobně do vývoje hybridizace tohoto taxonu vstupuje jiný druh z minulosti.

Podle analýzy v software STRUCTURE HARVESTER je nejpravděpodobnější počet skupin v datech pro diploidy i tetraploidy 3, reálně však všechny vzorky v rámci diploidů i tetraploidů patří do jedné homogenní skupiny. Shlukové analýzy ukázaly, že mezi tetraploidními jedinci je relativně vysoká populační variabilita, oproti jedincům diploidním, kde není variabilita téměř žádná. Analýza hlavních koordinát spolehlivě rozdělila jednice na diploidy a tetraploidy. U diploidů byli rozlišeni dva jedinci s atypickými znaky pro *B. pendula*, kteří měli některé znaky typické pro tetraploidní taxony, přesto se ukázalo, že se od *B. pendula* geneticky neliší. Práce KUNEŠE et al. (2019) se věnuje problematice zařazení březových taxonů v Českém masivu podrobněji. Molekulární metody použité v této práci nebyly schopny identifikovat významné rozdíly mezi tetraploidními druhy *B. pubescens*, *B. carpatica* a *B. petraea*. Základní velikost genomu odhadnutá pomocí průtokové cytometrie spolehlivě neumožnila rozlišení žádného tetraploidního taxonu. Nové taxonomické zařazení *B. petraea* i *B. carpatica* je navrženo v aktualizovaném Klíči ke květeně České republiky (VAŠUT 2019), kdy bříza karpatská je uváděna jako poddruh, bříza skalní je ze seznamu přijatých taxonů vynechána. KUNEŠ et al. (2019) dokonce navrhuje postavení *B. carpatica* na nižší taxonomickou úroveň než poddruh.

Břízy z okruhu *B. pubescens* (*B. carpatica*, *B. petraea*) jsou v české taxonomii odlišeny od břízy pýřité a považovány za samostatné druhy (HEJNÝ et SLAVÍK 1990, BURIÁNEK et al. 2014). BALCAR (2001) udává, že při obnově lesů je do 1000 m n. m. vhodná *B. pubescens*, kdežto nad 1000 m n. m. je vhodné použít *B. carpatica*. Doporučení týkající se použití *B. carpatica* nově implementovala česká legislativa (vyhláška č. 298/2018 Sb.). Čeští lesníci mají

snahu zajistit relevantní osivo na nejexponovanější stanoviště. Díky vysoké morfologické variabilitě a nespolehlivému rozlišení mezi druhy by bylo pro získání vhodného reprodukčního materiálu vhodnější zacílit na původ porostu. Při sběru sadebního materiálu by bylo vhodné se spíš zaměřit na původ druhu a sběr místní populace než na mezidruhové rozlišování.

9 Závěr

Vysoká genetická i morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) je způsobena rozsáhlou mezidruhovou hybridizací a následným zpětným křížením s rodičovskými druhy. To zapříčiňuje nejasné taxonomické členění, které je dodnes velice diskutovanou problematikou.

Za účelem rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců byly v této práci provedeny genetické analýzy (analýzy mikrosatelitů). Ty ukázaly různou genetickou variabilitu, zatímco u tetraploidů byla relativně vysoká, u diploidů naopak minimální. Celkové výsledky však naznačují, že i přes značnou morfologickou variabilitu tvoří jak diploidní, tak i tetraploidní jedinci jednu homogenní skupinu.

Taxonomické zařazení bříz z okruhu *B. pubescens* (např. *B. carpatica*, *B. petraea*) je jednou z často diskutovaných otázek. Do nedávné doby byly v české literatuře tyto druhy považovány za samostatné. Nyní se ale taxonomické postavení těchto druhů mění, nově jsou navrhovány jako poddruh *B. pubescens*, či dokonce na nižší taxonomické úrovni.

Při zajišťování vhodného reprodukčního materiálu by bylo vhodné se zaměřit na původ druhu a sběr místních populací, nikoliv na rozlišování jednotlivých druhů, které je kvůli vysoké morfologické i genetické variabilitě v praxi velice náročné.

10 Seznam použité literatury a zdrojů

- ASHBURNER, K., McALLISTER, H. A. *The Genus Betula: A Taxonomic Revision of Birches*. UK: Kew Publishing, Richmond, Surrey, 2013. 448 s.
- ATKINSON, M. D., CODLING, A. N. A reliable method for distinguishing between *Betula pendula* and *B. pubescens*. *Watsonia*. 1986, vol. 16, s. 75–76.
- ATKINSON, M. D. *Betula Pendula* Roth (*B. Veruucosa* Ehrh.) and *B. Pubescenc* Ehrh. *The Journal of Ecology*, 1992, 80: 837–870.
- BECK, P., CAUDULLO, G., DE RIGO, D., TINNER, W. *Betula pendula, Betula pubescens* and other birches in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: SAN-MIGUEL-AYANZ, J., DE RIGO, D., CAUDULLO, G., HOUSTON DURRANT, T., MAURI, A. (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species*. Luxembourg: The European Commision's science and knowledge service, 2016, s. 70–74.
- BEDNÁŘOVÁ, E. Reakce různých druhů břízy na imisní zatížení v Krušných horách. *Lesnická práce*. 2002, vol. 81, no. 11
- BERANOVÁ, M., HEINZELOVÁ, H., JAŠKA, P., JIŘIŠTĚ, L., KATRYČOVÁ, L., KONVALINKOVÁ, P., KÖPPL, P., KOPTÍK, J., KOUŘIL, M., KUNA, P., NĚMEC, P., NĚMEČEK, L., STŘELEČEK, M., TROUTNAR, J., VELEHRADSKÝ, D., VEVERKOVÁ, Z., ZEMANOVÁ, M. *Praktický rádce pro hospodaření v CHKO Broumovsko*. České Budějovice: DAPHNE ČR – Institut aplikované ekologie, 2008. 68 s.
- BRUVO, R., MICHIELS, NK., D'SOUZA, TG. & SCHULENBURG, H. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Molecular Ecology*, 2004, 13 s. 2101–2106.
- BURIÁNEK, V., NOVOTNÝ, P., FRÝDL, J. *Metodická příručka k určování domácích druhů bříz: Certifikovaná metodika*. Strnady: VÚLHM, 2014.
- EŠNEROVÁ, J., KARLÍK, P., ZAHRADNÍK, D., KOŇASOVÁ, T., STEJSKAL, J., BALÁŠ, M., VÍTÁMVÁS, J., RAŠÁKOVÁ, N., STACHO, J., KUTHAN, J., LUKÁŠOVÁ, M., KUNEŠ, I. Morfologická variabilita rodu

- Bříza (*Betula L.*) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. *Zprávy lesnického výzkumu*. 2012, vol. 57, no. 2, s. 112–125.
- EVANNO, G., REGNAUT, S., GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*. 2005;14(8):2611–20. pmid:15969739
- FALTYSOVÁ, H., MACKOVČIN, P., SEDLÁČEK, M., MACKOVČIN, P., SEDLÁČEK, M. (eds.). *Chráněná území ČR, svazek V*. Praha: AOPK ČR a EkoCentrum Brno, 2002. 410 s.
- FERKL, J. Lesy v Krušných horách. In: Šišák, L., Stýblo, J. (eds.). *Ekonomické aspekty rekonstrukce náhradních porostů v Krušných horách*. Praha: ČZU, Fakulta lesnická a environmentální, 2006, s. 4–6.
- FURLOW J., The genera of Betulaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor*. 1990, 71: 1–67.
- GARDINER, A. S., JEFFERS, JNR. Analysis of the collective species *Betula alba L.* on the basis of leaf measurements. *Silvae Genetica*, 1962, 11: 125–176
- GILL, J. A., DAVY, A. J. Variation and polyploidy within lowland populations of the *Betula pendula / B. Pubescens* complex. *New Phytologist*. 1983, vol. 94, s. 433–451.
- GREILHUBER, J., DOLEŽEL J., LYSÁK M. A., BENNETT MD. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms “genome size” and “C-value” to describe nuclear DNA contents. *Annals of botany*, 2005, 95:255–60. DOI: 10.1093/aob/mci019.
- HIEKE, K. *Praktická dendrologie (1)*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1978. 533 s.
- HEJNÝ, S., SLAVÍK, B. *Květena České Republiky 2*. Praha: Academia, 1990. 540 s.
- HRDLIČKA, P., KULA E. Reakce břízy na imisní zátěže v Krušných horách. *Lesnická práce*. 2002, vol. 81, no. 11

- HURT, V., MAUER, O. *Podsadby přípravných porostů břízy bělokoré, olše a jeřábu ptačího bukem lesním a jedlí bělokorou*. Certifikovaná metodika, Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2016, 40 s.
- JÄRVINEN, P., PALMÉ, A., MORALES, L.O., LÄNNENPÄÄ, M., KEINÄNEN, M., SOPANEN, T., LASCOUX, M. Phylogenetic relationships of *Betula* species (*Betulaceae*) based on nuclear ADH and chloroplast MatK sequences. *American Journal of Botany*. 2004, vol. 91, s. 1834–1845.
- KARLÍK, P., EŠNEROVÁ, J., URFUS, T., KUNEŠ, I., BALÁŠ, M., VÍTÁMVÁS, J., KOŇASOVÁ, T., KUBEŠOVÁ, M., FÉR, T., VÍT, P. Problematika určování druhů bříz *Betula* L. ve světle průtokové cytometrie. In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku 2010*. Kostelec nad Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2010, s. 51–56.
- KARLÍK, P. Taxonomická problematika bříz *Betula* L. v České republice se zvláštním zřetelem na drobné taxony z okruhu břízy pýřité *Betula pubescens* agg. In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku 2010*. Kostelec nad Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2010, s. 61–65.
- KOBLÍŽEK, J. *Jehličnaté a listnaté dřeviny našich zahrad a parků*. 2. rozšíř. vyd. Tišnov: Sursum, 2006. 551 s.
- KOŇASOVÁ, T., EŠNEROVÁ, J., VÍTÁMVÁS, J., KARLÍK, P., KUNEŠ, I., BALÁŠ, M., RAŠÁKOVÁ, N., STACHO, J., STEJSKAL, J. Předběžné zhodnocení vybraných morfologických znaků pro určování zástupců rodu *Betula* L. rostoucích na území ČR, In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku 2010*. Kostelec nad Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2010, s. 57–60.
- KOŠULIČ, M. Pionýrské dřeviny v hospodářském lese. *Lesnická práce*. 2019, vol. 98, no. 1, s 25–27.
- KULA, E. *Bříza a její význam pro trvalý rozvoj lesa v imisních oblastech*. Kostelec nad Černými lesy: Nakladatelství Lesnická práce, 2011. 276 s.
- KULA, E. K vývoji zdravotního porostu ve východním Krušnohoří. *Lesnická práce*. 2002, vol. 81, no. 11

- KULJU, K. K. M., PEKKINEN, M., VARVIO, S. Twenty-three microsatellite primer pairs for *Betula pendula* (Betulaceae). *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4. 3: 471–473.
- KUNEŠ, I., BALÁŠ, M., EŠNEROVÁ, J., KOŇASOVÁ, T., VÍTÁMVÁS, J., ZAHRADNÍK, D., STACHO, J., POSPÍŠILOVÁ, K., RAŠÁKOVÁ, N., GALLO, J., KARLÍK, P., POHLOVÁ, J. Bříza byla a zůstává tématem pro lesnický provoz i výzkum. In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku 2010*. Kostelec nad Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2010, s. 32–36.
- KUNEŠ, I., LINDA, R., FÉR, T., KARLÍK, P., BALÁŠ, M., EŠNEROVÁ, J., VÍTÁMVÁS, J., BÍLÝ, J., URFUS, T. 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(10): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224387>
- LINDA, R., KUNEŠ, I., BALÁŠ, M., GALLO, J. Morphological variability between diploid and tetraploid taxa of the genus *Betula* L. in the Czech Republic. *Journal of forest science*. 2017, vol. 63, no. 12, s. 531–537.
- MCALLISTER, H., ASHBURNER, K. *Betula megrelica*. *Curtis's Botanical Magazine*. 2007, 593. 24, s. 174–179.
- MALLET, J. Subspecies, Semispecies, Superspecies. *Encyclopedia of Biodiversity*, 2007, Elsevier. 1–5.
- NOVÁK, J., BASAŘOVÁ, G., FIALA, J., DOSTÁLEK, P. Průtoková cytometrie ve výzkumu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a její aplikace v praxi. *Chemické listy*. 2008, vol. 102, no. 3, s. 183–187.
- NOVÁK, M. *Využití průtokové cytometrie v hematoonkologii*. Olomouc, 2010. Rigorózní práce. Hemato-onkologická klinika FN Olomouc.
- REISNER, J., ZEIDLER, A. Možnosti Využití dřeva břízy. *Lesnická práce*. 2010, vol. 89, no. 12, s. 30–31.
- ROTHMALER, W. *Exkursionsflora von Deutschland, Band 4, Gefäßpflanzen, Kritischer Band*. München: Spektrum Akademischer Verlag, 2005. 612 s.

- SHEPHERD, T., GRIFFITHS, D. W. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist*. 2006, vol.171, s. 469–499.
- SIEGEL, S., CASTELLAN, Jr. NJ Nonparametric statistics for the behavioral sciences, 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, 1988. New York, NY, England.
- SIMON, J., BUČEK, A. Bříza jako dominantní druh sukcesních stádií lesa rekultivovaných území po povrchové těžbě uhlí. In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku 2010*. Kostelec nad Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2010, s. 114–117.
- SKALICKÁ, K. Polyploidie dokáže s rostlinnými genomy pořádně zatřást. *Živa*. Akademie věd ČR. 2005, vol. 2
- SLODIČÁK, M. Lesnické hospodaření v imisní oblasti Krušných hor (Informace o projektu Grantové služby LČR). In: Šišák, L., Stýblo, J. (eds.). *Ekonomické aspekty rekonstrukce náhradních porostů v Krušných horách*. Praha: ČZU, Fakulta lesnická a environmentální, 2006, s. 7–15.
- SLODIČÁK, M., NOVÁK, J. *Výchova porostů náhradních dřevin: recenzovaná metodika*. Strnady: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 2008. Lesnický průvodce. ISBN 978-80-86461-99-1.
- SPRÁVA CHKO BROUMOVSKO. *Ptačí oblast Broumovsko* [online]. Broumov: Správa CHKO Broumovsko, [2012] [cit. 2018-03-30]. Dostupné z WWW: <http://broumovsko.ochranaprirody.cz/res/archive/031/006379.pdf>
- STEENIS, C. *Specific and Intraspecific Delimitation*. – *Flora Malesiana*, 1957, Series 1 (5): 167–234.
- SÝKORA, T. Taxonomie a rozšíření bříz okruhu *Betula alba* v Českém masivu. *Zprávy České Botanické Společnosti*. 1983, vol. 18, s. 1–14.
- ÚHUL Národní inventarizace lesů v České republice, 2001–2004. Úvod, metody, výsledky. Ústav pro hospodářskou úpravu lesů, Brandýs nad Labem, 2007, 224 s.

- ÚRADNÍČEK, L., MADĚRA, P., KOLIBÁČOVÁ, S., KOBLÍŽEK, J., ŠEFL, J.
Dřeviny České republiky. Písek: Matice Lesnická, spol. s.r.o., 2001. 333 s.
- ÚRADNÍČEK, L. Dendrologicko-ekologická charakteristika domácích druhů rodu
Betula. In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku 2010*. Kostelec nad
Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2010, s. 46–50.
- VAŠUT, RJ. *Betula L. – bříza. Klíč ke květeně České Republiky*, 2019. In
KAPLAN, Z., Academia, Praha, p 1172.
- VĚTVIČKA, V. *Evropské stromy*. 4. vyd. Praha: Aventinum nakladatelství, s.r.o.,
2004. 216 s.
- ZAMASTILOVÁ, P. *Morfologická variabilita bříz na území Broumovska*. Praha,
2018. Bakalářská práce. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta
lesnická a dřevařská, Katedra pěstování lesů.
- ZEIDLER, A. Vlastnosti dřeva břízy. In: Prknová, H. (ed.). *Bříza – strom roku
2010*. Kostelec nad Černými lesy: Česká zemědělská univerzita v Praze,
2010, s. 41–45.

Zákony a vyhlášky

- Vyhláška č. 157/1991 Sb. Vyhláška o zřízení chráněné krajinné oblasti
Broumovsko.
- Vyhláška č. 298/2018 Sb. Vyhláška o zpracování oblastních plánů rozvoje lesů a o
vymezení hospodářských souborů
- Zákon č. 309/1991 Sb. Zákon o ochraně ovzduší před znečišťujícími látkami (zákon
o ovzduší)

Použitý software

- EARL, DA., VONHOLDT, BM. STRUCTURE HARVESTER: A website and
program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno
method. *Conservation Genetics Resources*, 2012, 4:359–361.
- HUBISZ, MJ., FALUSH, D., STEPHENS, M., PRITCHARD, JK. Inferring weak
population structure with the assistance of sample group information.
Molecular ecology resources, 2009, 9:1322–32.

JAKOBSSON, M., ROSENBERG, NA. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*. 2007, 23:1801–1806.

R CORE TEAM R: *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. URL <https://www.R-project.org/>.

ROSENBERG, NA. DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4:137–138.

11 Přílohy

SEZNAM OBRAZOVÝCH PŘÍLOH

- 1) Zobrazení listů vybraných druhů bříz – *B. pendula*, *B. pubescens*, *B. carpatica*
- 2) Sběr vzorků na lokalitě Broumovsko
- 3) Výstup ze STRUCTURE HARVESTER – klastry
- 4) Mapové rozmístění zkoumaných jedinců na území Broumovska

- 1) Zobrazení listů vybraných druhů bříz – *B. pendula*, *B. pubescens*, *B. carpatica*



Bříza bělokorá (*Betula pendula*) [Zdroj: Beck 2016]



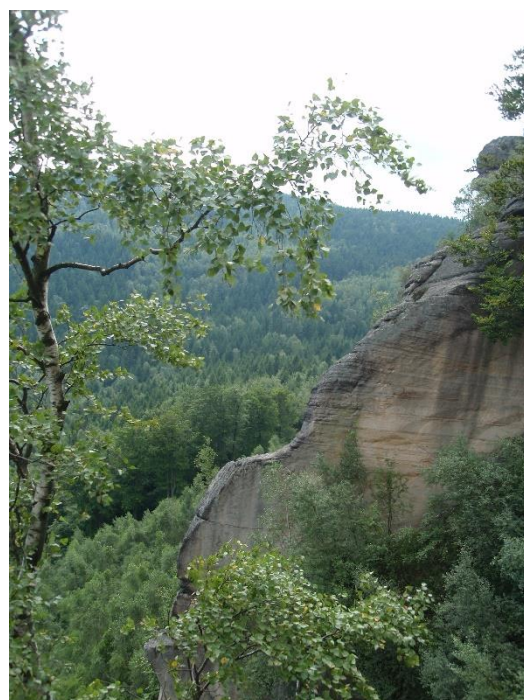
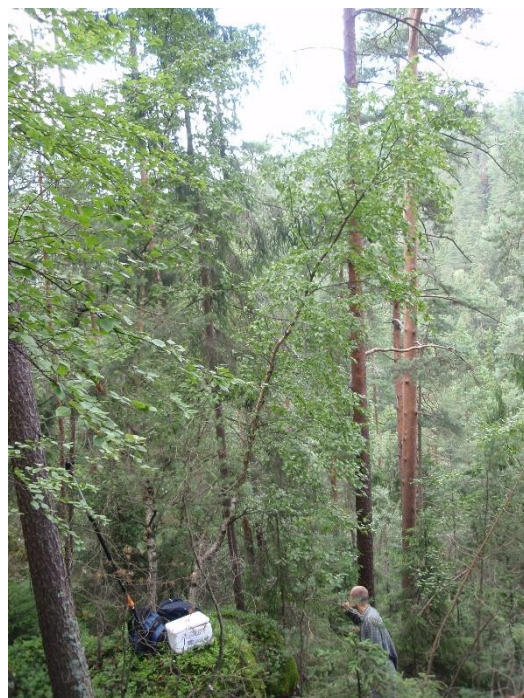
Bříza pýřitá (*Betula pubescens*) [Zdroj: Beck 2016]



Bříza karpatská (*Betula carpatica*)

[Zdroj: <https://botany.cz/cs/betula-carpatica/>]

2) Sběr vzorků na lokalitě Broumovsko [Foto: I. Kuneš]



3) Výstup ze STRUCTURE HARVESTER

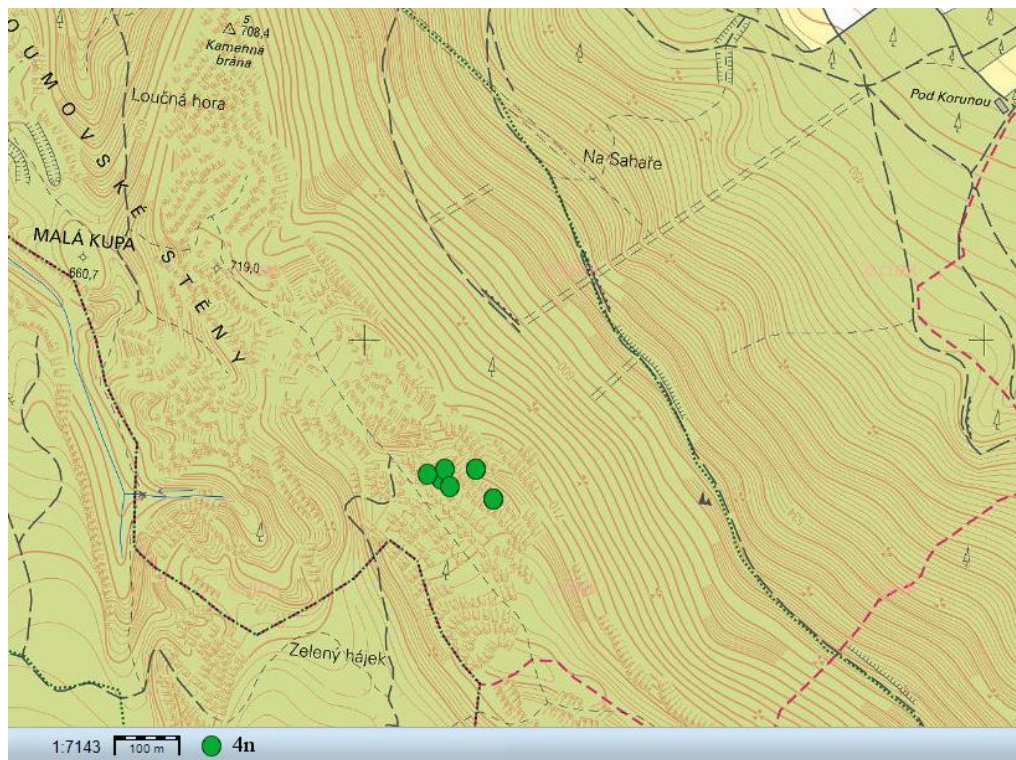
Diploidi

K	Reps	Mean	Stdev	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
		LnP(K)	LnP(K)			
1	20	-509,815	0,8869	NA	NA	NA
2	20	-510,28	1,3065	-0,465	0,555	0,424798
3	20	-510,19	1,54	0,09	0,745	0,483779
4	20	-510,845	1,6631	-0,655	0,765	0,459996
5	20	-510,735	1,5922	0,11	0,37	0,232386
6	20	-510,255	1,4912	0,48	NA	NA

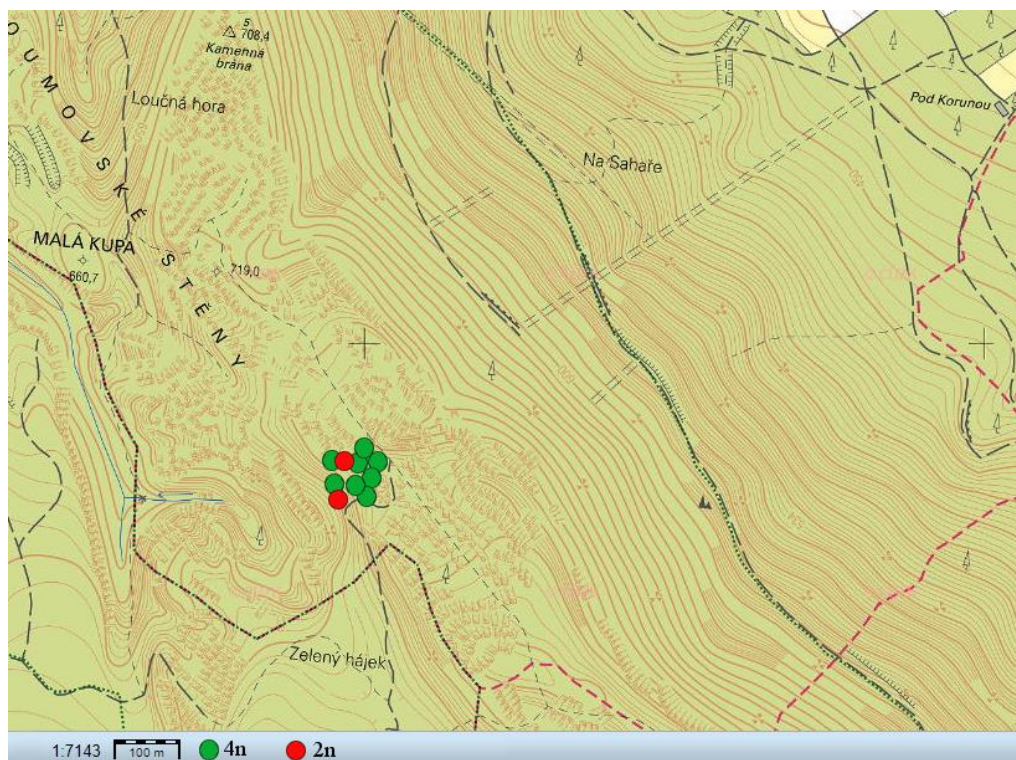
Tetraploidi

K	Reps	Mean	Stdev	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
		LnP(K)	LnP(K)			
1	20	-1342,96	0,8894	NA	NA	NA
2	20	-1349,1	15,4302	-6,14	67,84	4,396578
3	20	-1287,4	5,3934	61,7	64,7	11,99621
4	20	-1290,4	8,8189	-3	3,35	0,379864
5	20	-1296,75	13,8518	-6,35	NA	NA

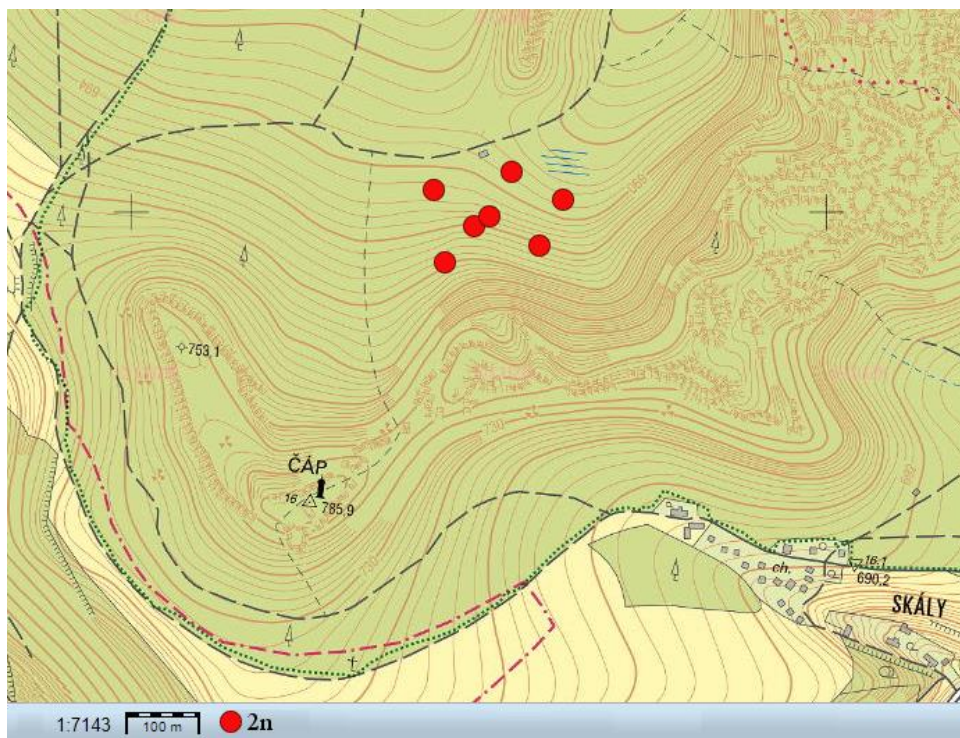
Rozmístění tetraploidních jedinců na lokalitě Pod Korunou



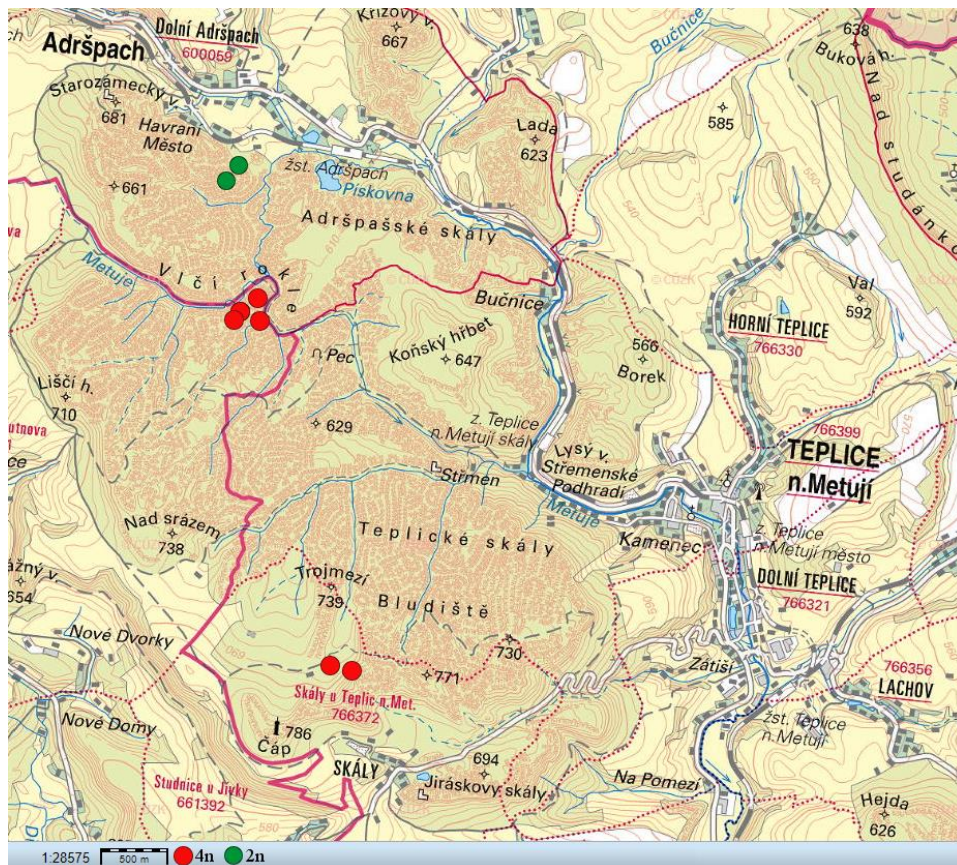
Rozmístění diploidních a tetraploidních jedinců na lokalitě Zelený hájek



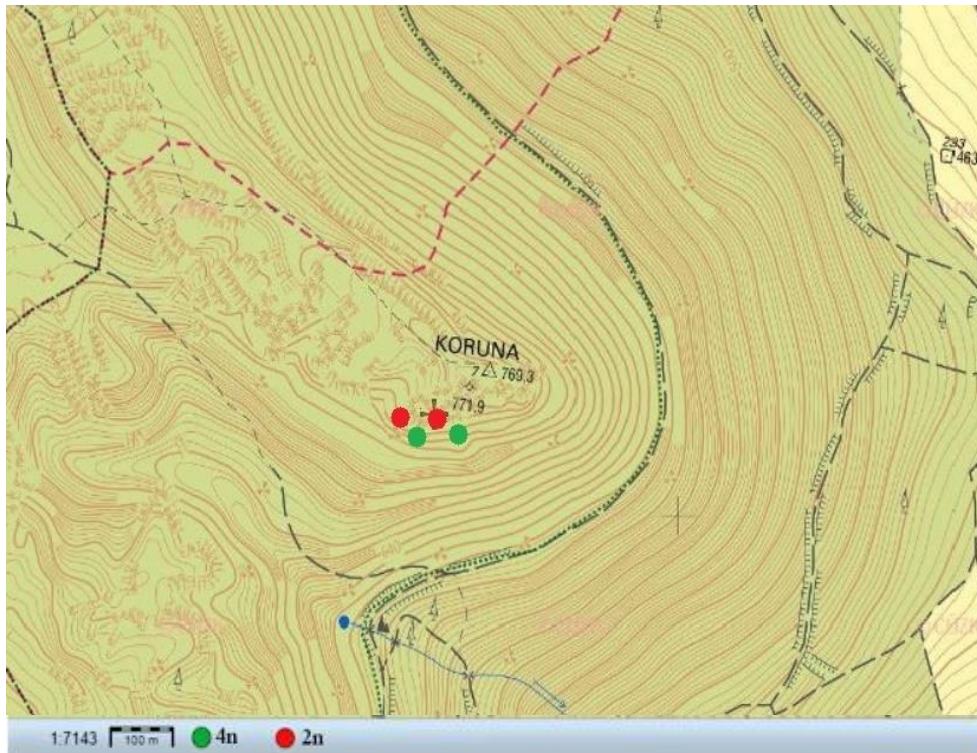
Rozmístění diploidních jedinců na lokalitě Čapí vrch



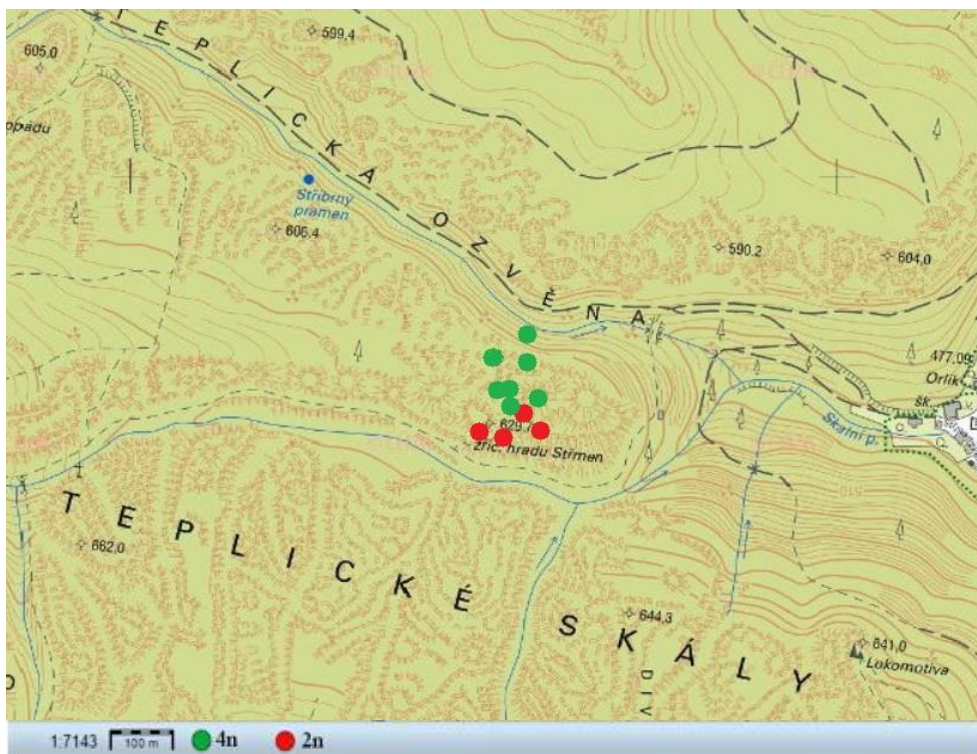
Rozmístění diploidních a tetraploidních jedinců na lokalitě Teplické skály



Rozmístění diploidních a tetraploidních jedinců na lokalitě Koruna



Rozmístění diploidních a tetraploidních jedinců v lokalitě Teplická ozvěna



Rozmístění diploidních jedinců na lokalitě Vlčí rokle

